

**Histometrische und autoradiographische
Untersuchungen zur Rückbildung
der epidermalen Hyperplasie**

Gert Burkhardt

1976



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41555611_0051

Aus der Dermatologischen Klinik und Poliklinik
der Universität München
Direktor : Professor Dr. med. O. Braun Falco

Histometrische und autoradiographische
Untersuchungen zur Rückbildung
der epidermalen Hyperplasie

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der Zahnheilkunde
an der Ludwig Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Gert Burkhardt

aus München

1976

Mit Genehmigung des Fachbereichs Medizin
der Universität München

1. Berichterstatter:	Prof. Dr.med. E. Christophers
2. Berichterstatter:	Prof. Dr.med. O. Braun-Falco
Dekan:	Prof. Dr.med. W. Spann
Tag der mündlichen Prüfung:	27.4.1976



DISSERTATIONS- UND FOTODRUCK FRANK oHG
8 München 2, Gabelsbergerstraße 15, Tel. 2 8 0 9 0 9 0

INHALTSÜBERSICHT

I.	<u>EINLEITUNG</u>	3
II.	<u>MATERIAL UND METHODEN</u>	9
	A. Material	9
	B. Methoden	10
	1. Erzeugung der Hyperplasie	10
	2. Autoradiographische Präparate	10
	3. Fluoreszein-Isotiozyanat-Färbung	11
	4. Meßmethoden	12
	a) Autoradiographie	
	b) Zellagen im str. corneum	
	c) Histoplanimetrie	
	5. Versuchsablauf	14
III.	<u>ERGEBNISSE</u>	15
	1. Makroskopische Beobachtungen	15
	2. Histologische Beobachtungen	16
	3. Quantitative Ergebnisse	22
	a) Dicke der lebenden Epidermis	22
	b) Dicke des str. granulosum	26
	c) Dicke des rete Malpighi	28
	d) Dicke des str. corneum	30
	e) Basalmembranlänge	34
	f) Markierte Zellen / Oberflächenlänge	37
	g) Semilogarithmische Darstellungen	40
	h) Korrelationen der Parameter	45
	i) Schematische Darstellung der Epidermis	46

IV.	<u>BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE</u>	49
A.	Diskussion 1. bis 6. Tag	50
1.	Vergleich von MKZ/OFL und der Dicke der unverhornten Epidermis	50
2.	Verhalten des str. granulosum	56
3.	Verhalten des str. corneum	57
4.	Verhalten der dermoepidermalen Verbundzone	60
B.	Diskussion 6. bis 15. Tag	62
1.	Verhalten von unverhornter Epidermis, rete Malpighi, str. granulosum und BML/OFL	62
2.	Verhalten des str. corneum	64
3.	Verhalten des MKZ/OFL	65
V.	<u>ZUSAMMENFASSUNG</u>	67
VI.	<u>LITERATURVERZEICHNIS</u>	70

I. EINLEITUNG

Die Säugetier-Gewebe lassen sich nach verschiedenen Gesichtspunkten einteilen. So kann etwa der entwicklungsgeschichtliche Aspekt zu einer Einteilung führen, die eine Zuordnung der Gewebe des Erwachsenen zu der entsprechenden Keimschicht beinhaltet. Für die Epidermis bedeutet dies, daß sie — als Abkömmling des Ektoderm — zusammen mit dem zentralen Nervensystem, dem peripheren Nervensystem, dem Sinnesepithel und einer Reihe weiterer Organe eine Gruppe bildet.

Im Hinblick auf die vorliegende Arbeit scheint jedoch die Einteilung von Messier und Leblond (43) sinnvoller, die auf dem funktionellen Moment der physiologischen Regenerationsfähigkeit basiert. Es werden drei Gruppen angegeben.

1. statische Gewebe (z.B. Nervengewebe, Muskelgewebe), also hochdifferenzierte Gewebe, in welchen die Einzelzelle Reize nur mit Hypertrophie beantworten kann (molekulare Regeneration);
2. wachsende Gewebe (Drüsen), in denen bei Stimulation Zellteilungen möglich sind;
3. Mausergewebe (z.B. Epidermis, Hautanhangsgebilde, Knochenmark, Keimdrüsen)
Hier laufen während des ganzen Lebens Zellteilungen ab, um einen physiologischen Zellverlust auszugleichen.

Nicht eingeordnet in dieses Schema sind Gewebe wie das Endometrium, die Mamma, welche eine ausgesprochen zyklische Regeneration aufweisen.

Die wesentlichen Eigenschaften eines Mausergewebes lassen sich in drei Punkten zusammenfassen (11).

1. Es liegt eine kontinuierliche Zellteilung vor, um einen natürlichen Zellverlust durch Zelltod auszugleichen. Die Regulation von Zellproduktion und Zellverlust unterliegt zahlreichen Einzelvorgängen, die bislang nicht vollständig geklärt sind (7, 9, 41).
2. Die "zellregenerative Potenz" der Epidermis unterscheidet sie von anderen Mausergeweben. Darunter versteht man, daß bei Stimulation der Epidermis (z.B. durch HDC, Teer, gelbe Vaseline, besonders aber bei Verwundung) eine starke Steigerung des Zellersatzes möglich ist (13, 17, 22, 26, 32, 33, 36, 52, 55). Es kommt zu einer zahlenmäßigen Vermehrung von Zellen — zur Hyperplasie. Diese Eigenschaft unterscheidet die Epidermis von anderen Mausergeweben. Das Intestinalepithel zum Beispiel weist im Normalzustand eine hohe regenerative Leistung auf. Doch kann durch Reizeinwirkung kaum eine weitere Steigerung der Regeneration erzielt werden.

3. Charakteristisch für ein Mausergewebe ist weiterhin, daß proliferative und differenzierende Zellen funktionell wie auch feingeweblich-morphologisch unterscheidbar sind (6, 11, 16, 47). Die Zellteilung erfolgt ausschließlich im str. basale (11, 12, 21, 25, 32, 49). Tochterzellen, welche die Basalzellschicht verlassen, verlieren die Fähigkeit der Zellteilung und sind auch bei Stimulation z.B. durch chemische Substanzen (mit einigen Ausnahmen z.B. Verwundung (33, 52)) nicht mehr zur DNS-Synthese fähig.

Durch autoradiographische Untersuchungen wurde festgestellt, daß sich jeweils ca. 5 - 6 % der Basalzellen einer normalen Meerschweinchenepidermis in der Phase der DNS-Verdoppelung (S-Phase) befinden (52, 61). Die Erneuerungszeit (turnover) im str. basale beträgt bei der Meerschweinchenepidermis etwa 5 Tage (11, 61).

Für den Verbleib der Tochterzellen, die aus einer Zellteilung hervorgehen, werden drei Möglichkeiten angenommen (42).

1. Beide Zellen bleiben basal ;
2. beide treten in die Differenzierungen ;
3. eine Zelle bleibt Basalzelle, eine differenziert sich.

Dies konnte am Ösophagusepithel von Ratten, also an einem nur schwach keratinisierten Epithel mittels autoradiographischer Technik nachgewiesen werden (42) und dürfte auch für die Epidermis Gültigkeit haben (18).

Mit dem Verlassen des str. basale, also der proliferativen Zellpopulation, beginnt die Ausdifferenzierung mit der Synthese von Keratinvorstufen (Tonofilamente, Tonofibrillen). Kurz vor dem Tod der Zelle, im histologisch gut kenntlichen str. granulosum kommt es zur Verschmelzung von Tonofilamentbündeln sowie zum Sichtbarwerden von Keratohyalinschollen. Die "turn-over-time" vom str. basale bis zur Obergrenze des str. granulosum beträgt bei der Meerschweinchenepidermis etwa 14 Tage (11, 18, 61).

Die letzte Stufe der Differenzierung führt nach Lyse des Zellkernes, Wasserverlust, Membranverdickung und Verschmelzung des Cytoplasmas zur Bildung der str. corneum-Zelle, die bei der Epidermis des Menschen nach etwa 14 Tagen die Hautoberfläche erreicht und verlorengeht. Dabei sinkt das Volumen. Diese keratinreiche Zelle (50 % Keratin) (37) besitzt im Gegensatz zur kugelförmigen Basalzelle (Durchmesser ca. 12 μm) eine plattenartige Gestalt (Durchmesser 30 μm , Dicke 0,5 μm).

Aus dem klinischen Bereich sind Krankheitsbilder bekannt, die als ein wesentliches Merkmal hyperplastische Epidermisveränderungen aufweisen (z.B. Psoriasis vulgaris, Neurodermitis, chronisches Ekzem). Auch die hyperplastische senile Keratose, eine Präkanzerose, muß hier genannt werden.

Zur weiteren Klärung einzelner Probleme bei der Entwicklung und Rückbildung solch hochgradiger Epidermisverdickung soll die Analyse von experimentell erzeugten Hyperplasien an Labortieren

beitragen. Als Versuchstier bietet sich dazu das Meerschweinchen an. Die Ohrepidermis dieses Tieres gleicht in Dicke, Zellgröße und Verlauf der dermoepidermalen Verbundzone weitgehend der menschlichen Rumpfhaut (11, 16).

Es ist bekannt, daß eine Reizung der Epidermis auf verschiedenste Art (physikalisch, chemisch) zu einer Hyperplasie aufgrund einer gesteigerten Mitoserate führt. Bullough nimmt einen einheitlichen Mechanismus an in Form einer Zellmembranschädigung mit nachfolgendem Chalone-Verlust (9).

In der vorliegenden Arbeit wurde Hexadecan (HDC) als Hyperplasiogen verwendet. Diese Substanz führt zu einem psoriasis-ähnlichen Bild an der Meerschweinchenepidermis :

- Vergrößerung des Epidermisvolumens
- starke Verzahnung an der dermoepidermalen Verbundzone (11, 16)
- Hyperkeratose (allerdings orthokeratotisch)
- Erhöhung der epidermalen Zellproliferation
- Verkürzung der Erneuerungszeit

In den zahlreichen Arbeiten, die sich mit einer experimentell erzeugten Hyperplasie befassen, wurden meist nur einzelne Gewebsparameter (z.B. Epidermisdicke, Markierungsindex) während der Hyperplasiaentstehung erfaßt (2, 3, 13, 31, 39, 40, 52, 61).

Bisher nicht untersucht und daher weitgehend unbekannt ist der Mechanismus der Rückbildung einer bestehenden Hyperplasie. Auch erscheint es interessant festzustellen, inwieweit die epidermalen Veränderungen bei der durch HDC verursachten benignen Hyperplasie reversibel sind.

Zu diesem Zweck wurden die wesentlichen Parameter der hyperplastischen Epidermis nach einer experimentellen Stimulation der Epidermopoese quantitativ und zeitabhängig erfaßt. Besondere Beachtung wurde dabei dem Verhalten der Einzelkompartments in Beziehung zur gesamten Epidermis geschenkt.

Dazu diente die Bestimmung folgender Parameter :

- Dicke der lebenden Epidermis
- Dicke des str. granulosum
- Dicke des rete Malpighi (d.h. str. basale + str. spinosum)
- Dicke des str. corneum
- Quotient von Basalmembranlänge und Oberflächenlänge
- Zahl der markierten Zellen pro Oberflächenlänge

II. MATERIAL UND METHODEN

A. Material

Für den Versuch wurden männliche Albino-Meerschweinchen vom Stamm Purbright verwendet. Das Gewicht der Tiere lag bei 200 - 350 g. Die Ernährung erfolgte mit Trockenfutter Altromin^R. Wasser sowie Altromin standen ad libitum zur Verfügung. Die Haltung der Tiere erfolgte bei einer Stalltemperatur von ca. 22° C und bei normalem diurnalen Rhythmus.

Das verwendete Hyperplasiogen war n-Hexadecan (HDC) C₁₆ H₃₄, bezogen von Firma Schuchardt, München. Es wurde ein Gemisch Hexadecan : Diäthyläther = 1 : 2 hergestellt, welches eine gleichmäßige Verteilung auch von kleinen HDC-Dosen gewährleisten sollte.

Zur Markierung teilungsbereiter Zellen wurde ³H-Thymidin-Methyl (³H-TdR) (spezifische Aktivität 6,7 Ci/mMol (Buchler, Braunschweig)) benutzt.

Speziell zur Darstellung des str. corneum fand Fluoreszein-Isothiozyanat-Lösung (1 : 1000 - 1 : 4000) Verwendung.

B. Methoden

1. Erzeugung einer Hyperplasie an der dorsalen Ohr-epidermis. Tögllich einmal, immer zur gleichen Tageszeit (zwischen 9⁰⁰ und 10⁰⁰) wurde 0,1 ml des HDC-Äther-Gemisches mittels einer Tropfpipette auf die enthaarte Dorsalseite des Meerschweinchenohres aufgebracht. Allerdings konnte bei dieser Applikationsform nicht selektiv die Dorsalseite des Ohres behandelt werden, da eine rasche Ausbreitung auch in benachbarte Bezirke unvermeidbar war.

2. Autoradiographische Präparate

Dafür wurde 0,1 ml 0,9 %ige NaCl-Lösung + ³H-TdR entsprechend 10 µm Ci an der Dorsalseite des Ohres subepidermal injiziert. 40 Minuten nach der Markierung erfolgte, nach Tötung des Tieres durch Äther, die Präparatentnahme (48).

Um die Hornschicht möglichst unbeschädigt zu erhalten, wurde eine Schutzschicht aus Nobecutan^{R)} aufgesprüht. Um tageszeitliche Schwankungen der epidermalen Regeneration zu eliminieren, erfolgte die Gewebeentnahme immer zur selben Zeit (zwischen 9⁰⁰ und 10⁰⁰).

Von den so erhaltenen Gewebeproben wurden nach Einfrieren mit CO₂-Schnee im Kryostat 4 µm dicke

Schnitte hergestellt, wobei die Schnittebene senkrecht zur Epidermisoberfläche stand. Die verwendeten Objektträger waren mit Chromalaun-Gelatine präpariert. Nach Lufttrocknung der Schnitte (ca. 2 Stunden) wurden sie anschließend 5 Minuten in Methanol-Eisessig (9 : 1) fixiert.

Nach Aufbringen des Strippingfilmes (Kodak AR 10) erfolgte bei - 20° C eine 30-tägige Exposition in einem lichtdichten Kasten. Anschließend wurde der Film entwickelt (Kodak D 19 DV) und fixiert. Auf die Schlußwässerung folgte eine HE-Färbung und das Eindecken mit Kaisers Gelatine.

3. Fluoreszein-Isothiozyanat-Färbung (FITC)

Die Schnitte wurden hier auf normale Objektträger aufgebracht und unfixiert verwendet. Gefärbt wurde mit isotoner Fluoreszein-Isothiozyanat-Lösung 1 : 1000 bis 1 : 4000, etwa 2 Minuten lang. Nach zweimaliger Wässerung (je 1 Minute) wurden die Schnitte mit 1 %iger Essigsäure eingedeckt. Die Auswertung der Präparate erfolgte unter dem Fluoreszenz-Mikroskop (Zeiss, Filterkombination UG 141,40 KRP 500) im Auflicht (13, 20, 23). Als Fotomaterial diente ein Kodak Tri-x-Pan (27 DIN) und eine Zeiss-Ikon-Kamera, gekoppelt mit einer Belichtungsautomatik.

4. Meßmethoden

a) Autoradiographie

Unter dem Mikroskop wurden die markierten Zellen (basal und suprabasal) auf einer durch Tuschestriche begrenzten Epidermislänge bestimmt, wobei die Auszählung mehrfach erfolgte. Als Kriterium, ob eine Zelle markiert war, galt das Vorhandensein von mindestens 4 Silberkörnern über dem Kern und falls vorhanden über dem Background.

Zur Bestimmung der Oberflächenlänge wurde das Präparat mit 300-facher Vergrößerung projiziert (Zeiss Prado 500) und mit einem Rollmeßgerät entlang der Grenze von str. granulosum und str. corneum vermessen.

Zur Ermittlung eines Meßpunktes wurden etwa 6-8 cm Epidermis ausgewertet.

b) Zellagen im str. corneum

Im Fluoreszenz-Mikroskop wurden senkrecht zur Epidermisoberfläche die Hornzellagen gezählt, wobei Schuppenauflagerungen, die keine Zellstruktur mehr aufwiesen oder keinen kontinuierlichen Zusammenhang zu der unteren Schicht mehr hatten, unberücksichtigt blieben. Pro Meßpunkt wurden ca. 60 verschiedene Stellen ausgezählt.

c) Histoplanimetrie

Um die Dicke von lebender Epidermis, str. granulosum und str. corneum zu bestimmen, wurde die Epidermis in bekannter Vergrößerung (sie wurde 600-fach bis 1000-fach variiert) projiziert und abgezeichnet. Zur Messung wurden nur interfollikuläre Epidermisabschnitte herangezogen. Begrenzt wurden die abgezeichneten Flächen durch Senkrechte zur Oberfläche des str. granulosum bzw. Senkrechte zur Tangente an das str. granulosum. Die Länge der abgezeichneten Epidermis wurde mit einem Rollmeßgerät am Oberrand des str. granulosum sowie entlang der Basalmembran bestimmt. Die Fläche wurde mit einem Planimeter (Fa. Ott, Kempten) vermessen. Die durchschnittliche Dicke ergab sich aus Fläche / Länge und wurde in μm umgerechnet.

Pro Meßpunkt wurden etwa 4 - 6 mm Epidermis ausgewertet d.h. eine etwa der 40-fachen Dicke entsprechende Strecke.

Um genaue Messungen zu erhalten, muß der Schnitt senkrecht zur Epidermisoberfläche geführt werden. Bei einer Abweichung um 15° (20°) ergibt sich eine um

etwa 4 % (6 %) zu große Fläche und damit auch Dicke, wobei sich der prozentuale Fehler $f_{\%}$ aus

$$f_{\%} = 100 \left(\frac{1}{\cos \alpha} - 1 \right)$$

errechnet.

5. Versuchsablauf

Die Ohren der Meerschweinchen wurden 14 Tage lang mit dem Hyperplasiogen HDC behandelt. Die applizierte Gesamtmenge pro Ohr betrug in diesem Zeitraum 0,36 g HDC. Dann wurde die Behandlung abgesetzt und am 15. Tag mit der Präparatentnahme aus den Ohren begonnen. Die Untersuchung von je 2 Tieren erfolgte anfangs täglich, später in 2-Tages-Abständen.

Am 28. Tag wurde der Versuch abgebrochen.

Um Kontrollwerte zu erhalten, wurden während des Versuches in unregelmäßigen Abständen insgesamt 4 Tiere untersucht. Sie waren mit Ausnahme der HDC-Behandlung denselben Versuchsbedingungen und Auswertungsmethoden unterworfen.

III. ERGEBNISSE

1. Makroskopische Beobachtungen

Ausgehend von der normalen Epidermis am 1. Tag zeigt sich zwischen dem 2. und 3. Behandlungstag eine starke Rötung sowie eine mäßiggradige Schuppenbildung. Die zu beobachtende Verdickung der Ohren beruhte zu diesem Zeitpunkt im wesentlichen auf einem entzündlichen Ödem.

Vom 4. bis 7. Behandlungstag zeigte sich bei allen Tieren eine feine Schuppung, die im Ausmaß jedoch sehr stark schwankte. Die Entzündung war in diesem Zeitraum weitgehend abgeklungen, so daß die noch deutlich vorhandene Konsistenzzunahme auf eine entstandene Hyperplasie zurückzuführen war.

Etwa vom 7. Tag an traten stellenweise blutige Rhagaden und kleine Kratzverletzungen auf, die teils von starken Entzündungen begleitet waren.

Mit dem Absetzen der HDC-Behandlung ging innerhalb der ersten 4 Tage die Entzündung weitgehend zurück, während

die feine, weißliche Schuppung bei manchen Tieren noch bis zum 10. Tag nach Behandlungsende bestehen blieb.

2. Histologische Beobachtungen

a) Normale Epidermis am Meerschweinchenohr

Die normale Anatomie der Epidermis (Abb. 1) zeigt folgende Charakteristika: eine Basalzellenschicht mit dem dartüberliegenden str. spinosum von ca. 3 - 5 Zellagen. Daran schließt das 1-2-schichtige str. granulosum an und dann das str. corneum mit etwa 8 Zellschichten (Abb. 2). Die Hornschicht besitzt somit ebensoviele Schichten wie die gesamte lebende Epidermis. Der Verlauf der dermo-epidermalen Verbindungzone ist relativ geradlinig und läßt nur eine geringe Verzahnung durch Papillen und Retezapfen erkennen.



Abb. 1

Unbehandelte Meerschweinchen-Epidermis von der Dorsalseite des Ohres.
Die ^3H -TdR-Markierung erfolgte 40 Minuten vor der Gewebeentnahme.

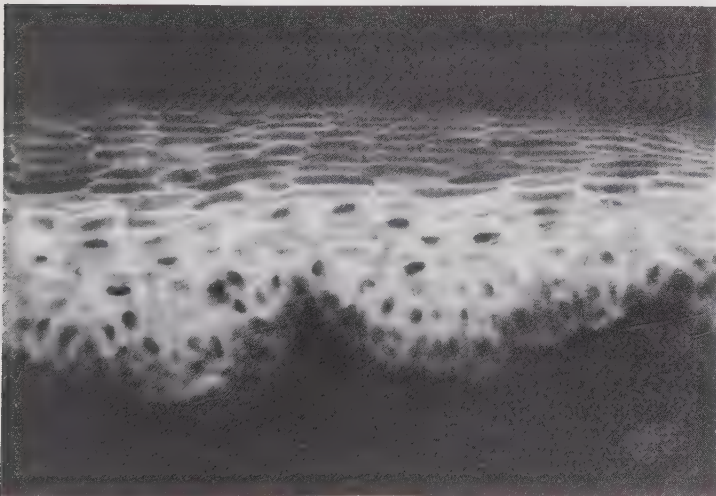


Abb. 2

Unbehandelte Meerschweinchen-Epidermis. Die Hornschichtstruktur wurde
durch FITC-Färbung sichtbar gemacht.

b) Hyperplastische Epidermis nach Absetzen der HDC-Behandlung

Auffälligste Veränderung ist die Dickenzunahme der Epidermis sowie eine ausgeprägte Faltung der Basalmembran (Papillomatose) (Abb. 3, 4). Die damit vergrößerte Verbundfläche von Dermis und Epidermis ist ein Befund, der 7 Tage nach Behandlungsende fast unverändert vorhanden ist (Abb. 4). Bei Versuchsabbruch besteht in leichter Form noch immer eine Papillomatose (Abb. 7). Die Oberfläche der Epidermis verläuft geradlinig.

Das str. granulosum hat vom Versuchsbeginn an seinen bandartigen Verlauf verloren und weist über den dermalen Papillen nur eine sehr geringe Schichtdicke auf, während über den Retezapfen eine trichterförmige Ausdehnung nach basal zu beobachten ist (Abb. 3). In diesen Gebieten erscheinen die str. granulosum-Zellen hypertrophisch. Eine Normalisierung wird histologisch erst gegen Versuchsende deutlich.

Besonders in den ersten 6 Tagen des Versuches zeigt das str. corneum eine starke Hyperkeratose (Abb. 5). Trotzdem ist die Verhornung durchweg orthokeratotisch. Bemerkenswert ist die gezackte, fast kugelige Form der Hornzellen über der Trichterbildung im str. granulosum (Abb. 6). Auch hier gehen die Veränderungen gegen Versuchsende weitgehend zurück (Abb. 8).

c) Autoradiographie

Markierte Zellen treten fast nur in der Basalschicht auf, nur gelegentlich weisen auch suprabasale Zellen Markierungen auf.

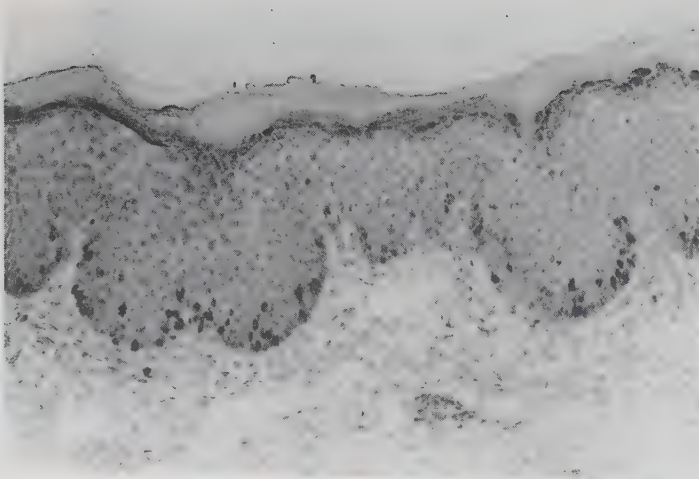


Abb. 3

Hyperplastische Meerschweinchen-Epidermis direkt im Anschluß an die 14-tägige HDC-Behandlung (1. Tag). Die Gewebeentnahme erfolgte 40 Minuten nach der ^3H -TdR-Markierung. Gut sichtbar ist hier die Nobecutan^R-Schutzschicht auf dem str. corneum.

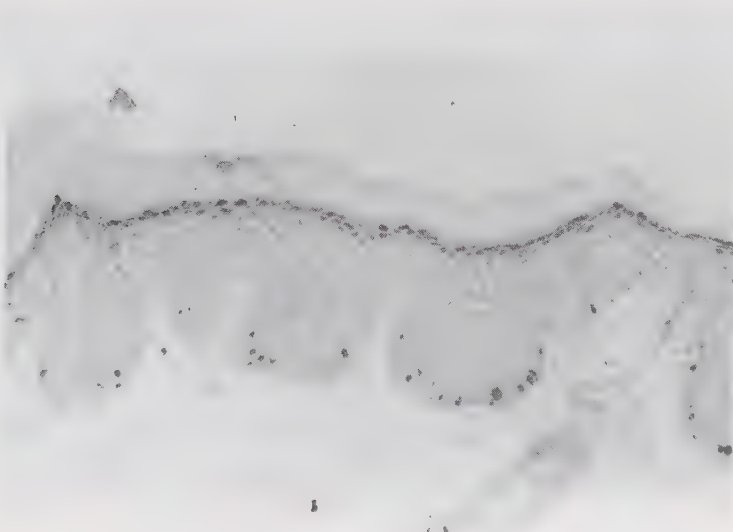


Abb. 4

Meerschweinchen-Epidermis 6 Tage nach der letzten HDC-Behandlung. Die ^3H -TdR-Markierung erfolgte 40 Minuten vor der Gewebeentnahme.

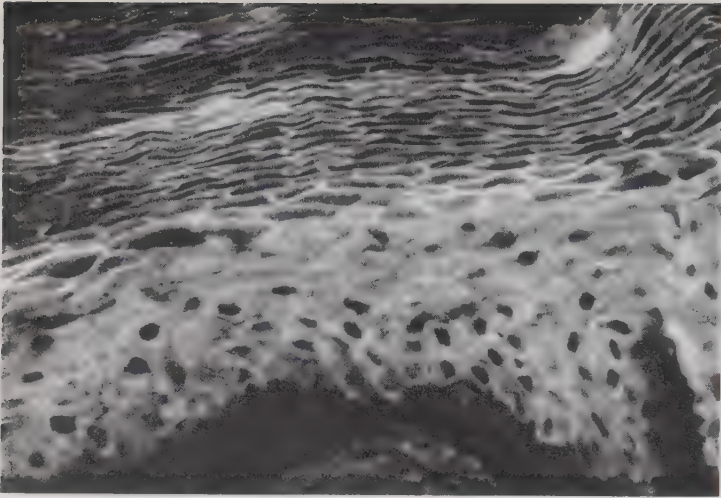


Abb. 5

Hyperkeratose der Meerschweinchen-Epidermis am 3. Tag nach Ende der HDC-Behandlung, dargestellt nach der FITC-Methode.

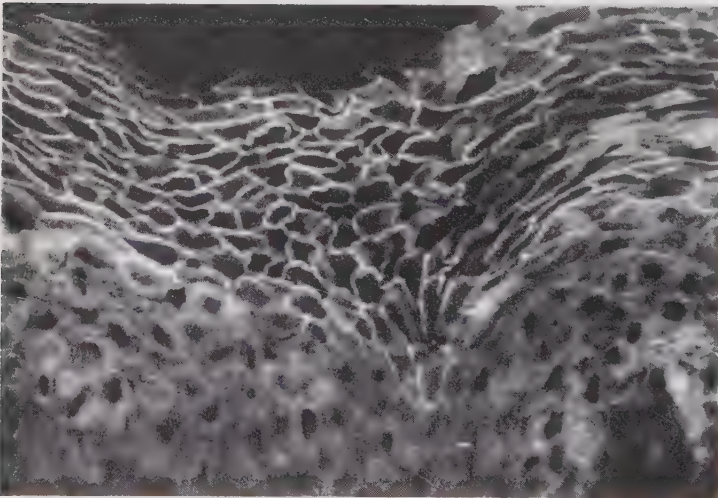


Abb. 6

Meerschweinchen-Epidermis 4 Tage nach der letzten HDC-Behandlung. In der FITC-Darstellung wird die von der Norm abweichende Morphologie der Hornzelle sichtbar, wie sie bei der Hyperkeratose oft zu sehen ist.

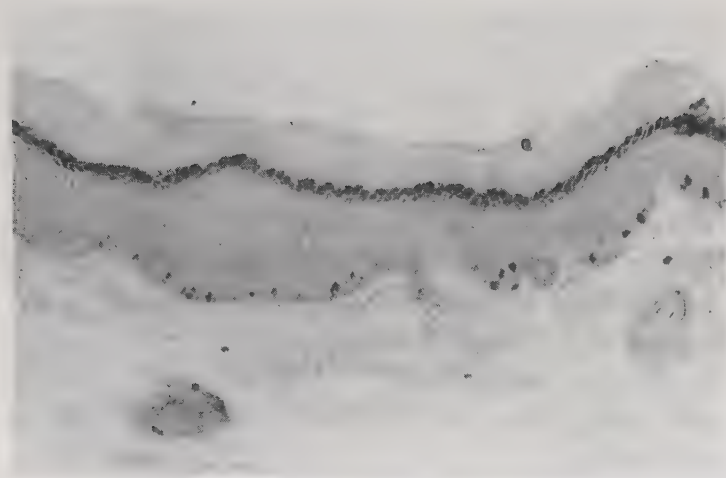


Abb. 7

Autoradiographisches Präparat der Meerschweinchen-Epidermis vom 13. Tag nach Behandlungsende. Die Gewebeentnahme erfolgte 40 Minuten nach der ^3H -TdR-Markierung.

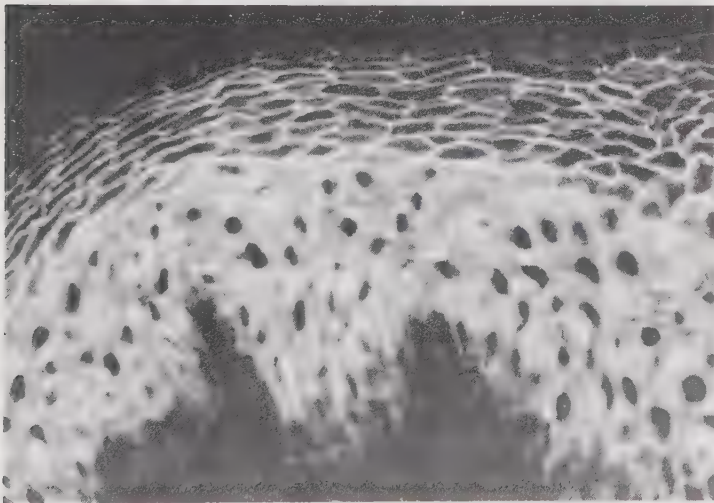


Abb. 8

FITC-Färbung der Meerschweinchen-Epidermis. Die Gewebeprobe stammt vom Versuchsende (15. Tag).

3. Quantitative Ergebnisse

Ziel der Untersuchungen war es, anhand von verschiedenen epidermalen Parametern (Schichtdicken, Basalmembranlänge, markierte Zellen pro Oberflächenlänge) eine quantitative Aussage über Veränderungen des Epidermisschichtaufbaues im Anschluß an eine 14-tägige HDC-Behandlung zu erhalten, sowie mögliche Korrelationen der Meßgrößen untereinander aufzudecken.

Wie bereits erwähnt, wurden alle Dickenmessungen nach dem Verfahren der Projektionshistoplanimetrie durchgeführt. Die Vorteile dieser Auswertung liegen nach Weirich (60) darin, daß die Epidermis in ihrer Gesamtheit erfaßt wird und daß geringere Meßfehler und bessere Reproduzierbarkeit gegenüber den Messungen mit Objektmikrometer zu erzielen sind. Ferner ist eine Detailplanimetrie möglich (z.B. Erfassung des str. granulosum).

a) Dicke der lebenden Epidermis

In Abb. 9 ist die Dicke der lebenden Epidermis gegen die Zeit aufgetragen. Der Verlauf läßt erkennen, daß bis zum 6. Tag nach Behandlungsende eine etwa konstante Dicke von 153 μm besteht, was bei einem Kontrollwert von 62 μm einer etwa 2,5-fachen Dickenzunahme entspricht.

Vom 6. Tag an tritt eine Störung des steady state auf. Das Epidermisvolumen sinkt.

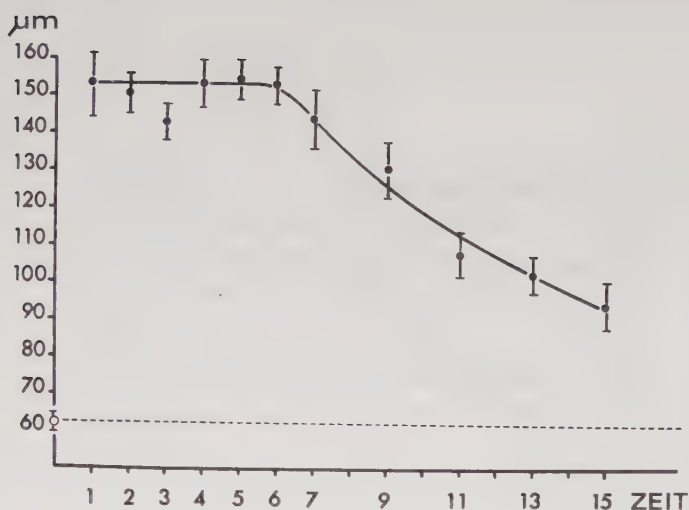


Abb. 9

Ordinate : Dicke der unverhornten Epidermis in μm

Abscisse : Zeit in Tagen nach Ende der 14-tägigen HDC-Behandlung

Es ist der Mittelwert mit Standard-Irrtum angegeben. Die gestrichelte Linie gibt das Kontrollwert-Niveau an.

Wertetabelle Dicke der unverhornten Epidermis :

Tag	Dicke (μm)	$\pm S_{\bar{x}}$	Tag	Dicke (μm)	$\pm S_{\bar{x}}$
0	61,9	2,3	6	153,3	4,9
1	153,1	8,9	7	143,8	8,6
2	150,7	5,0	9	130,5	7,4
3	142,8	5,1	11	107,6	5,9
4	153,5	6,1	13	102,9	4,8
5	154,4	5,4	15	94,4	6,3

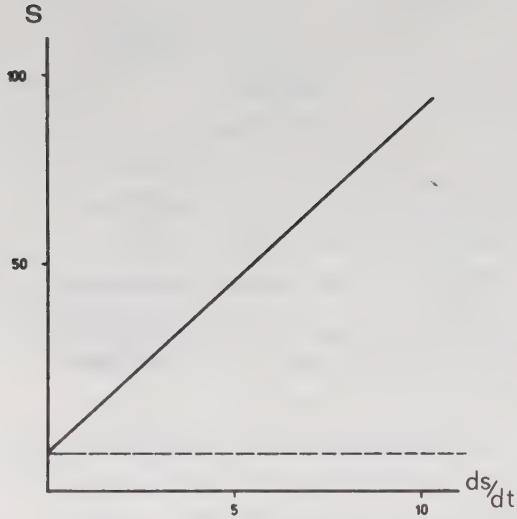


Abb. 10

Dargestellt ist die Proportionalität der Verminderung der epidermalen Hyperplasie dS (μm) pro Zeit dt (Tag) und der Verdickung S (μm) der Epidermis. S bedeutet die Dickenabweichung vom Kontrollwert.

Die Gerade wurde aus der Differentialgleichung $\frac{dS}{dt} = -\lambda S$ bestimmt, die sich durch Differenzieren der Funktion $S = A \cdot e^{-\lambda t}$ ergibt.

Vergleicht man die tägliche Dickenabnahme zu Beginn (6. - 8. Tag) mit der gegen Versuchsende (13. - 15. Tag), so fällt auf, daß sich anfangs die Schicht um etwa 10 µm pro Tag, gegen Ende aber nur noch um 3 µm pro Tag verkleinert.

Dieser Abfall läßt sich in sehr guter Näherung im Bereich von Tag 7 - 15 durch eine e-Funktion der Form $S = A \cdot e^{-\lambda t}$ darstellen.

Die Berechnung nach der Methode der kleinsten Quadrate ergibt

$$S = 186,78 e^{-0,1182 t}$$

wobei S = Schichtdicke über dem Kontrollwert, t = Zeit bedeutet.

Es ist also die Schichtdickenabnahme pro Zeit (dS/dt) proportional zur jeweiligen Schichtdicke über dem Kontrollwert (S) (Abb. 10), d.h. die Anzahl der aus der lebenden Epidermis verschwindenden Zellen ist proportional zur Gesamtzahl der Zellen, die sich in der Schicht über dem Kontrollwert befinden.

Die Halbwertszeit, d.h. die Zeit, in der sich die Dicke über dem Kontrollwert (S) um die Hälfte reduziert, beträgt 5,87 Tage.

b) Dicke des str. granulosum

Wie aus Abb. 11 hervorgeht, ist nach Behandlungsende die Dicke des str. granulosum von Kontrollwert ($7,3 \mu\text{m}$) auf $28,5 \mu\text{m}$ angewachsen. Das bedeutet eine 3,9-fache Steigerung. Weiter ist festzustellen, daß die Kurve bis zum 5. Tag ansteigt und zwischen dem 5. und 6. Tag ihr Maximum aufweist.

Erst am 6. Tag, also zum gleichen Zeitpunkt wie bei der lebenden Epidermisdicke, setzt die zu erwartende Rückbildung der Verdickung im str. granulosum ein. Der Verlauf vom 9. Tag an läßt sich ebenfalls sehr gut durch eine e-Funktion darstellen; sie lautet

$$S = 44,8 e^{-0,1155 t}.$$

Die Halbwertszeit beträgt 6,01 Tage. Die Abklingkonstante sowie die Halbwertszeit stimmen mit den Messungen an der lebenden Epidermis so gut überein, daß für beide Parameter ein einheitlicher Mechanismus als Ursache der Dickenabnahme angenommen werden muß.

Da das str. granulosum eine Schicht innerhalb der lebenden Epidermis darstellt, liegt der Verdacht nahe, daß für alle Schichten eine e-Funktion den Abbau der Hyperplasie im betrachteten Bereich beschreibt.

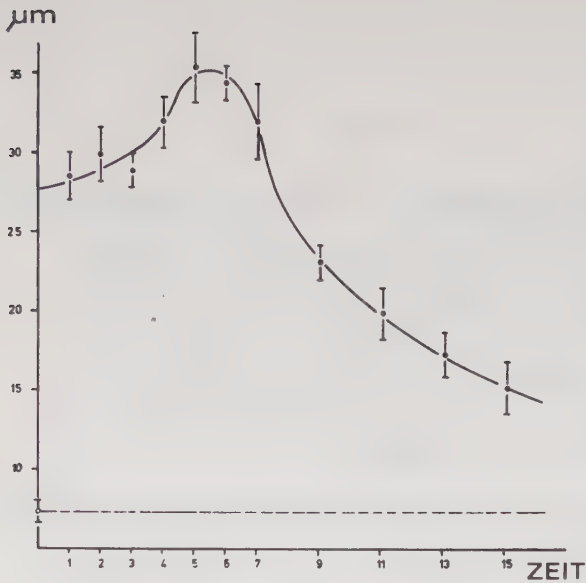


Abb. 11

Ordinate : Dicke des str. granulosum in μm

Abscisse : Zeit in Tagen nach Ende einer 14-tägigen HDC-Behandlung

Es ist der Mittelwert mit Standard-Irrtum angegeben. Die gestrichelte Linie gibt das Kontrollwert-Niveau an.

Wertetabelle str. granulosum :

Tag	Dicke (μm)	$\pm S_{\bar{x}}$	Tag	Dicke (μm)	$\pm S_{\bar{x}}$
0	7,3	0,7	6	34,4	1,1
1	28,5	1,4	7	32,0	2,4
2	29,9	1,7	9	23,1	1,1
3	28,9	1,1	11	19,9	1,6
4	31,9	1,6	13	17,3	1,4
5	35,4	2,2	15	15,2	1,7

c) Dicke des rete Malpighi (= str. basale + str. spinosum)

Einfache Differenzbildung der Meßwerte von lebender Epidermis und str. granulosum führt zu der in Abb. 12 gezeigten Kurve, die das Dickenverhalten des rete Malpighi in der Zeit darstellt. Am ersten Tag nach Behandlungsende liegt eine 2,3-fache Verdickung gegenüber dem Kontrollwert vor, am 15. Tag eine 1,4-fache.

Beide Werte stimmen recht gut mit den Werten der lebenden Epidermis überein. Im Gegensatz zu den bisher dargestellten Parametern zeigt die Kurve von Anfang an eine Dickenabnahme im rete Malpighi, die jedoch im Ausmaß schwankt. Sowohl zu Beginn als auch bei Versuchsende fällt die Schichtdicke etwa 1 - 2 µm pro Tag, während im Mittelteil bis zu 6 µm pro Tag vorliegen.

Wie aufgrund des Entstehungsmodus dieser Kurve nicht anders zu erwarten war, ist auch hier von Tag 9 - 15 ein Ausgleich mit einer e-Funktion sehr gut durchzuführen. Es ergab sich :

$$S = 139,74 e^{-0,1178 t}$$

Halbwertszeit 5,88 Tage.

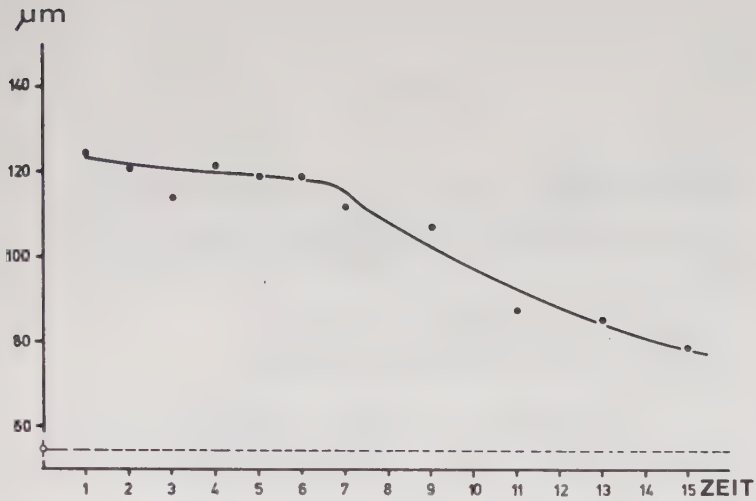


Abb. 12

Ordinate : Dicke des rete Malpighi in μm

Abscisse : Zeit in Tagen nach Ende der 14-tägigen HDC-Behandlung

Die gestrichelte Linie gibt das Kontrollwert-Niveau an.

Wertetabelle rete Malpighi :

Tag	Dicke (μm)	$\pm S_{\bar{x}}$	Tag	Dicke (μm)	$\pm S_{\bar{x}}$
0	54,6	—	6	118,9	—
1	124,6	—	7	111,8	—
2	120,8	—	9	107,4	—
3	113,9	—	11	87,7	—
4	121,6	—	13	85,6	—
5	119,0	—	15	79,2	—

d) Dicke des str. corneum

Diese Messung wurde auf zwei verschiedene Arten durchgeführt :

- nach der Methode der Histoplanimetrie und
- nach dem Verfahren der Fluoreszenzmikroskopie.

Bei der letzteren Methode wurde mittels FITC-Färbung die Hornzellwand sichtbar gemacht und durch eine milde Säureschwellung das gesamte str. corneum zur Darstellung gebracht (14, 15, 23). Durch Zellzählung wurde die Schichtdicke indirekt erfaßt. Dabei ist vorteilhaft, daß die Meßgröße vom Zellvolumen unabhängig ist.

Wie in Abb. 13, 14 dargestellt, erbringen beide Meßmethoden, trotz ihrer grundsätzlichen Verschiedenheit, überraschend ähnliche Ergebnisse. So beginnen am 1. Tag beide Kurven mit einem etwa gleich stark verdickten str. corneum (1,7-fach bzw. 1,9-fach, siehe auch Tabelle 1). Bis zum 3. Tag steigen die Kurven an und erreichen dort ihr Maximum (2,3- bzw. 2,4-fache Verdickung). Danach schließt der absteigende Schenkel an (in der Kurve im μm -Maßstab mit einem Haltepunkt).

Für die Messung auf der Basis von Zellagen wurde der Versuch gemacht, im Intervall von Tag 7 bis 15 eine e-Funktion zu verwenden. Die errechnete Funktion

$$Z = 12,79 e^{-0,224 t}$$

(mit Z = Zellagen über dem Kontrollwert) führt jedoch nur zu einer recht schlechten Annäherung.

Auswertungs- verfahren	Faktor der Hornschichtverdickung		
	1. Tag	3. Tag	15. Tag
Histoplanimetrie	1,7	2,3	1,1
Fluoreszenz- mikroskopie	1,9	2,4	1,05

Tabelle 1

ZELLEN

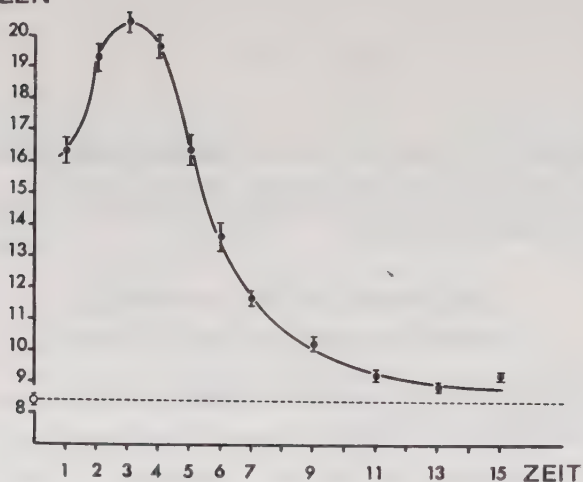


Abb. 13

Ordinate : Anzahl der Zellagen im str. corneum

Abscisse : Zeit (in Tagen) nach Ende der 14-tägigen HDC-Behandlung

Es ist der Mittelwert mit Standard-Irrtum angegeben. Die gestrichelte Linie gibt das Kontrollwert-Niveau an.

Wertetabelle str. corneum :

Tag	Zellagen	S _x	Tag	Zellagen	S _x
0	8,4	0,2	6	13,6	0,45
1	16,3	0,44	7	11,6	0,23
2	19,2	0,43	9	10,3	0,22
3	20,4	0,32	11	9,2	0,17
4	19,6	0,34	13	8,9	0,16
5	16,1	0,48	15	9,1	0,15

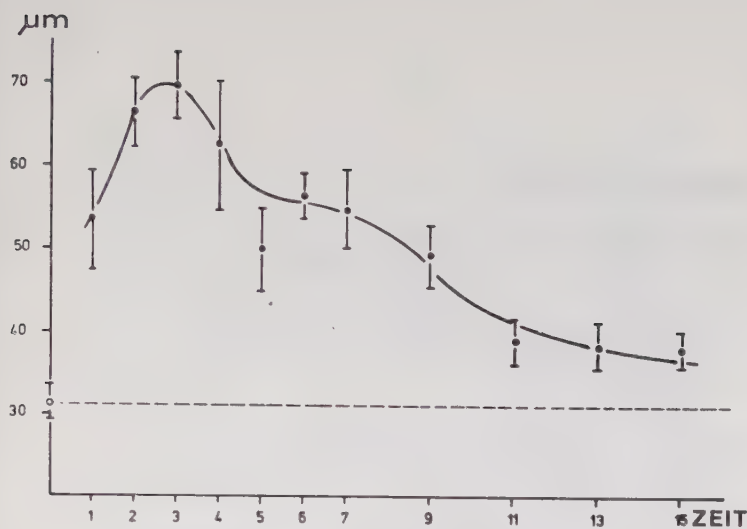


Abb. 14

Ordinate : Dicke des str. corneum in μm

Abscisse : Zeit in Tagen nach Ende der 14-tägigen HDC-Behandlung

Es ist der Mittelwert mit Standard-Irrtum angegeben. Die gestrichelte Linie gibt das Kontrollwert-Niveau an.

Wertetabelle str. corneum :

Tag	Dicke (μm)	$\pm S_{\bar{x}}$	Tag	Dicke (μm)	$\pm S_{\bar{x}}$
0	31,4	2,0	6	56,3	2,4
1	53,4	6,1	7	54,7	4,5
2	66,3	4,3	9	49,1	3,9
3	69,5	4,5	11	38,8	2,5
4	62,3	7,4	13	38,4	2,5
5	49,9	4,9	15	37,9	2,1

e) Basalmembranlänge (BML)

Wenn die Epidermis sich im steady state befindet, kann man vom MKZ/OFL auf die proliferative Aktivität schließen. Die Zahl der in die Differenzierung eintretenden postmitotischen Tochterzellen steht in direktem Verhältnis zur proliferativen Aktivität.

Tritt jedoch eine Störung des Fließgleichgewichtes ein, wie es sowohl während als auch nach der HDC-Behandlung der Fall ist, so muß diese Aussage hinsichtlich des MKZ/OFL eingeschränkt werden. Folgende Überlegungen spielen dabei eine Rolle :

Eine Schwierigkeit ergibt sich daraus, daß die Änderung der Zellzyklusdauer unbekannt ist, wobei insbesondere die Dauer der S-Phase und ihr prozentualer Anteil am Gesamtzyklus sich stark auf die Zahl der ermittelten markierten Zellen auswirken kann. Im allgemeinen wird die S-Phasen-Dauer als eine ziemlich konstante Gewebegröße angegeben (10, 15, 44, 57, 58, 61), die speziesabhängig im Bereich von 5 - 30 Stunden liegt. Beim Meerschweinchen beträgt sie etwa 9 Stunden (11,61).

Ob diese Größe auch bei einem verlangsamten Zellzyklus konstant bleibt, ist zu bezweifeln, zumal beim beschleunigten Zyklus Verkürzungen der S-Phase bis zu 23 % gemessen wurden (44).

Weiterhin ist zu berücksichtigen, daß bei der Erzeugung einer Hyperplasie zuerst der MKZ/OFL ansteigt und mit einer bestimmten Verzögerung auch die BML (50). Eine Veränderung der BML bedeutet eine zahlenmäßige Veränderung in der teilungsfähigen epidermalen Zellpopulation (11, 53). Das Verhältnis von MKZ/OFL und Zahl der in Differenzierung tretenden Zellen trifft zunächst nicht mehr zu, da unter der HDC-Applikation das teilungsfähige "Basal"-Zellpool zunächst vergrößert wird.

Um die Dynamik im Basalzellager zu erfassen, wurde die Länge der Basalmembran gemessen. Es wurde das Verhältnis von BML : OFL berechnet und die ermittelten Werte gegen die Zeit aufgetragen (Abb. 15).

Als Kontrollwert ergab sich ein Quotient von 1,09, der in guter Übereinstimmung mit der Literatur steht (11).

Zwischen 1. und 6. Tag steigen die Werte von 1,48 auf 1,54 an, also eine 1,36- bis 1,41-fache Verlängerung gegenüber dem Normalwert. Auf den leichten Anstieg folgt vom 6. Tag an ein ziemlich langsamer Abfall.

Auch hier führt eine Annäherung durch eine e-Funktion zu sehr guten Ergebnissen.

$$L = 0,853 e^{-0,1166 t},$$

wobei L die Abweichung vom Kontrollwert bedeutet, t = Zeit.
Die Halbwertszeit beträgt 5,94 Tage.

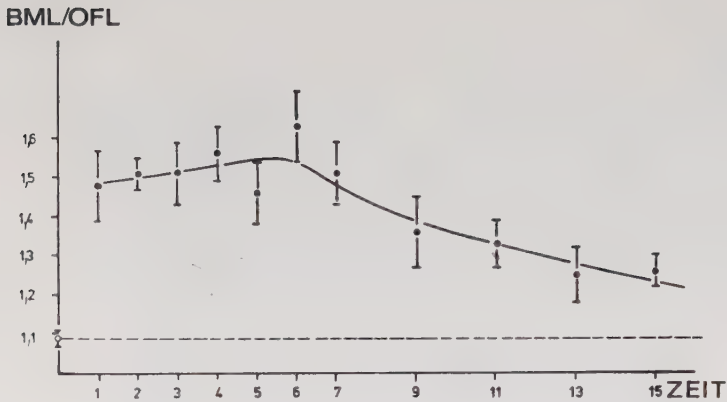


Abb. 15

Ordinate : Quotient Basalmembranlänge/Oberflächenlänge

Abscisse : Zeit in Tagen nach Ende der 14-tägigen HDC-Behandlung

Es ist der Mittelwert mit Standard-Irrtum angegeben. Die gestrichelte Linie gibt das Kontrollwert-Niveau an.

Wertetabelle BML/OFL :

Tag	BML/OFL	$\pm S_x$	Tag	BML/OFL	$\pm S_x$
0	1,09	0,02	6	1,63	0,09
1	1,48	0,09	7	1,51	0,08
2	1,51	0,04	9	1,36	0,09
3	1,51	0,08	11	1,33	0,06
4	1,56	0,07	13	1,25	0,07
5	1,46	0,08	15	1,26	0,07

f) Anzahl der markierten Zellen pro 1 mm Oberflächenlänge
(MKZ/OFL)

Für diese Messung wurde den Zellen Tritium-markiertes Thymidin durch subepidermale Injektion zugeführt (siehe Material und Methoden). Es ist ein Nukleosid, das von Zellen, die sich in der Phase der DNS-Verdoppelung befinden, in den Kern eingebaut wird (48, 56). Da die Einbaumöglichkeit auf 40 Minuten begrenzt war, die Zeit von Ende der S-Phase bis Beginn der Mitose (G_2 -Phase) aber länger als 1 Stunde ist (11, 51, 61), konnte eine Verfälschung der Messung durch Verdoppelung von markierten Zellen verhindert werden.

Ein Kriterium dafür, wann eine Zelle als markiert zu betrachten ist (siehe Material und Methoden), ist deshalb nötig, weil von kräftiger bis zu fehlender Markierung alle Zwischenstufen vorhanden sind. Dafür gibt es zwei Gründe: Für die Einzelzelle bestimmt die Zellzyklusphase zur Zeit der Tracerinjektion die Einbauzeit. Der Kernabstand von der Filmschicht variiert von 0 - 4 μm , was - bei einer Reichweite der Beta-Strahlen von ca. 2 μm im histologischen Schnitt (5, 28) - zu unterschiedlicher Filmschwärzung führt. Von Seiten der Halbwertszeit (Tritium ca. 12 Jahre) sind keine Fehler zu erwarten.

In Abb. 16 ist der MKZ/OFL in Abhängigkeit von der Zeit aufgetragen. Vom Maximal-Wert von 73 MKZ/OFL am 1. Tag fällt die Kurve bis zum 6. Tag auf annähernd Normalwert von 25 MKZ/OFL — die Kontrollwerte lagen bei 20,3. Auffallend dabei ist, daß die Umstellung von hoher proliferativer Aktivität auf normale Werte nicht schlagartig erfolgt, sondern bis etwa zum 4. Tag fast linear vor sich geht. Es liegt in diesem Bereich ein Abfall um 14 MKZ/OFL pro Tag vor.

Vom 6. bis zum 15. Tag zeigt die Kurve ein grundsätzlich anderes Verhalten als die bisher betrachteten. Zwischen 6. und 11. Tag liegt ein Ansteigen des MKZ/OFL vor, dann folgt wieder ein Abfall. Insgesamt ähnelt der Verlauf einer Schwingung mit abnehmender Amplitude und einer Frequenz von etwa 11 Tagen.

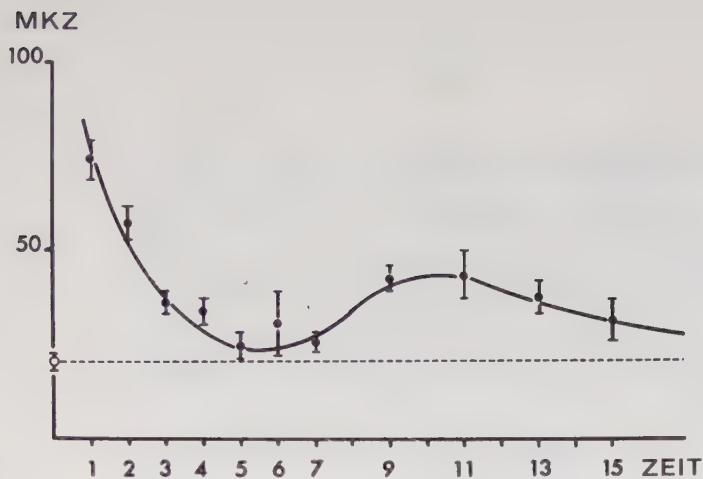


Abb. 16

Ordinate : Zahl der markierten Zellen pro 1 mm Oberflächenlänge
 Abscisse : Zeit in Tagen nach Ende der 14-tägigen HDC-Behandlung

Es ist der Mittelwert mit Standard-Irrtum angegeben. Die gestrichelte Linie gibt das Kontrollwert-Niveau an.

Wertetabelle Zahl der markierten Zellen pro 1 mm Oberflächenlänge :

Tag	MKZ/OFL	$\pm S_x$	Tag	MKZ/OFL	$\pm S_x$
0	20,3	2,4	6	30,5	8,3
1	74,0	5,3	7	25,5	2,5
2	57,1	4,5	9	42,4	3,2
3	36,1	2,5	11	43,5	6,1
4	33,4	3,2	13	37,4	4,1
5	24,8	2,8	15	31,5	5,4

g) Semilogarithmische Darstellungen

In den folgenden 3 Abbildungen (17, 18, 19) wurde eine logarithmische Zeitskala verwendet. Zweck ist eine übersichtliche Darstellung des kurz nach Behandlungsende folgenden Zeitraumes, während die biologisch weniger interessante Zeit auf einen kleinen Raum zusammengedrängt wird. Ferner enthält jede Graphik zwei Parameter, wodurch ein Vergleich der Kurven erleichtert wird. Folgende Parameterkombinationen wurden gewählt :

- lebende Epidermis - MKZ/OFL
- lebende Epidermis - BML/OFL
- str. granulosum - str. corneum

Abb. 17 zeigt, daß bis zum 6. Tag trotz abnehmendem MKZ/OFL im gleichen Zeitraum eine unverändert verdickte Epidermis besteht. Erst vom 6. Tag an setzt ein bis zum Versuchsende anhaltender Abbau der Hyperplasie ein. Der MKZ/OFL steigt vom 6. - 10. Tag also mit Einsetzen der Dickenabnahme der lebenden Epidermis an. Vom 10. Tag an sinkt die Zahl der markierten Zellen erneut in Richtung Kontrollwert-Niveau. Besonders auffallend ist das zeitliche Zusammentreffen von steigenden MKZ/OFL und abfallender Epidermisdicke.

In Abb. 18 wird eine sehr gute zeitliche Übereinstimmung der Dickenwerte der lebenden Epidermis und BML/OFL deutlich. Bis zum 6. Tag nimmt die Basalmembranlänge leicht zu, die lebende Epidermis ändert ihre Dicke nicht. Danach fallen die Meßwerte der beiden Parameter mit e-Funktionen ab, deren Abklingkonstanten praktisch identisch sind.

Am Versuchsende zeigt die lebende Epidermis noch eine 1,52-fache Normdicke, und die BML/OFL ist noch um den Faktor 1,13 verlängert. In der Diskussion wird durch Extrapolation der e-Funktionen angegeben, nach welcher Zeit die Werte nur noch um 10 % von der Normgrenze abweichen.

Bei den bisherigen Parameterkombinationen (MKZ/OFL – Epidermisdicke bzw. BML/OFL – Epidermisdicke) treten stets etwa am 6. Tag Änderungen im Kurvenverlauf ein. Anders dagegen in Abb. 19 (str. corneum – str. granulosum). Am 3. Tag tritt das Maximum im Verlauf der Kurve des str. corneum auf, und etwa 2 Tage später weist die Kurve des str. granulosum ein Maximum auf. Interessant ist dabei, daß die Zunahme der Hyperkeratose zwischen 1. und 3. Tag am 5. Tag wieder völlig abgebaut ist.

Bei Versuchsende weicht das str. corneum in der Anzahl seiner Zellagen kaum von der normalen Epidermis ab (Abweichung 6 %).

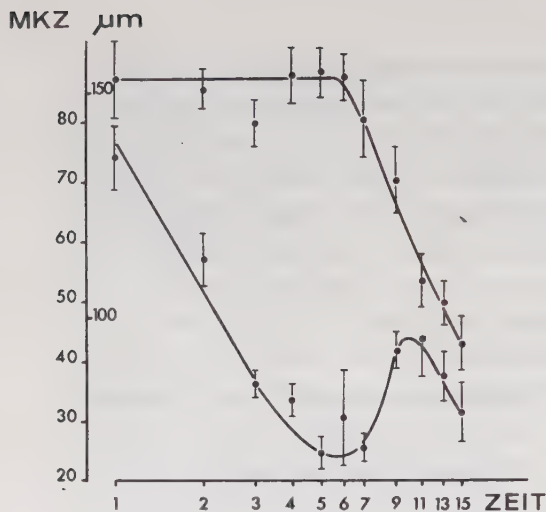


Abb. 17

Ordinate : Dicke der lebenden Epidermis in μm
(obere Kurve, linke Skala)

Zahl der markierten Zellen pro 1 mm OFL
(untere Kurve, rechte Skala)

Abscisse : Zeit in Tagen nach Ende der 14-tägigen HDC-Behandlung
(logarithmische Skala)

Es ist der Mittelwert mit Standard-Irrtum angegeben.

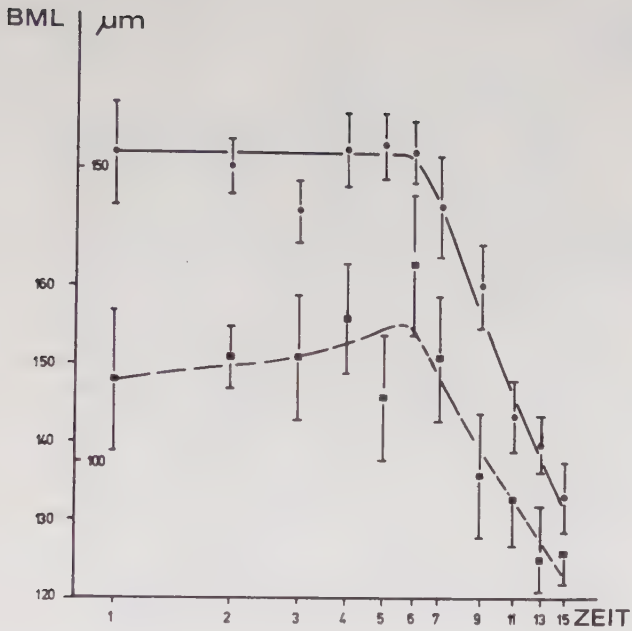


Abb. 18

Ordinate : Dicke der lebenden Epidermis in μm
(obere Kurve, rechte Skala)

BML/OFL in % der OFL
(untere Kurve, linke Skala)

Abscisse : Zeit in Tagen nach Ende der 14-tägigen HDC-Behandlung
(logarithmische Skala)

Es ist der Mittelwert mit Standard-Irrtum angegeben.

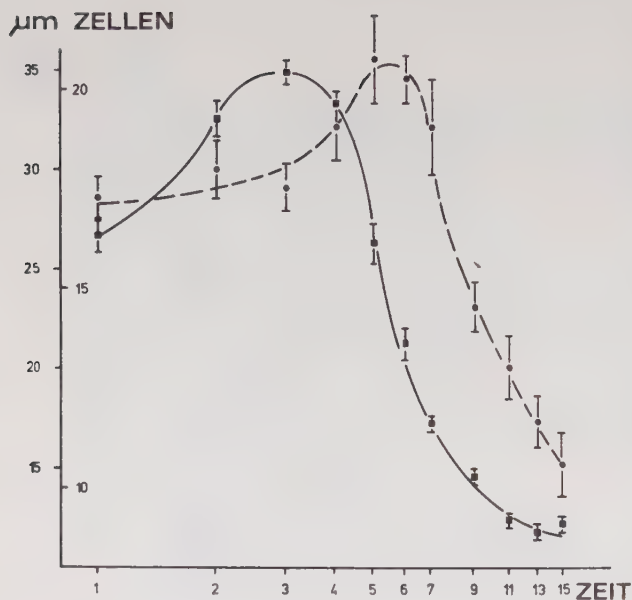


Abb. 19

Ordinate : Zahl der Zellagen des str. corneum
(ausgezogene Kurve, rechte Skala)

Dicke des str. granulosum
(gestrichelte Kurve, linke Skala)

Abscisse : Zeit in Tagen nach Ende der 14-tägigen HDC-Behandlung
(logarithmische Skala)

Es ist der Mittelwert mit Standard-Irrtum angegeben.

h) Korrelationen der Parameter

Korrelation der beiden Hornschichtmessungen

Um die beiden Meßmethoden des str. corneum im ganzen Intervall zu vergleichen, wurde der Korrelationskoeffizient errechnet. Die gute Übereinstimmung der Messungen wird deutlich in dem r-Wert von 0,9. Damit ist ausgedrückt, daß die beiden Meßmethoden zu Ergebnissen führen, die sich nur durch einen Proportionalitätsfaktor unterscheiden.

Dazu ist zu bemerken, daß ein Korrelationskoeffizient, dessen absoluter Wert zwischen 0,6 und 1 liegt, mit Sicherheit einen mathematischen Zusammenhang der Parameter beinhaltet. Ob jedoch auch ein causaler Zusammenhang der beiden Parameter besteht, ist damit nicht gesagt.

Ein ungünstiger Korrelationskoeffizient $r \leq |0,6|$ läßt überhaupt keine Aussage zu außer, daß die Parameter in keiner linearen Korrelation zueinander stehen. Sie können aber durchaus eine gute Korrelation in Form einer nicht linearen Funktion miteinander haben.

Im weiteren wird nur noch auf die Messung der Zellagenanzahl zurückgegriffen.

Anhand der Beschreibung der Einzelkurven erscheint es naheliegend, Korrelationen in 2 Phasen des Versuches zu überprüfen: Tag 1 - 6 und Tag 6 - 15.

Dabei ergaben sich gute Korrelationen in der

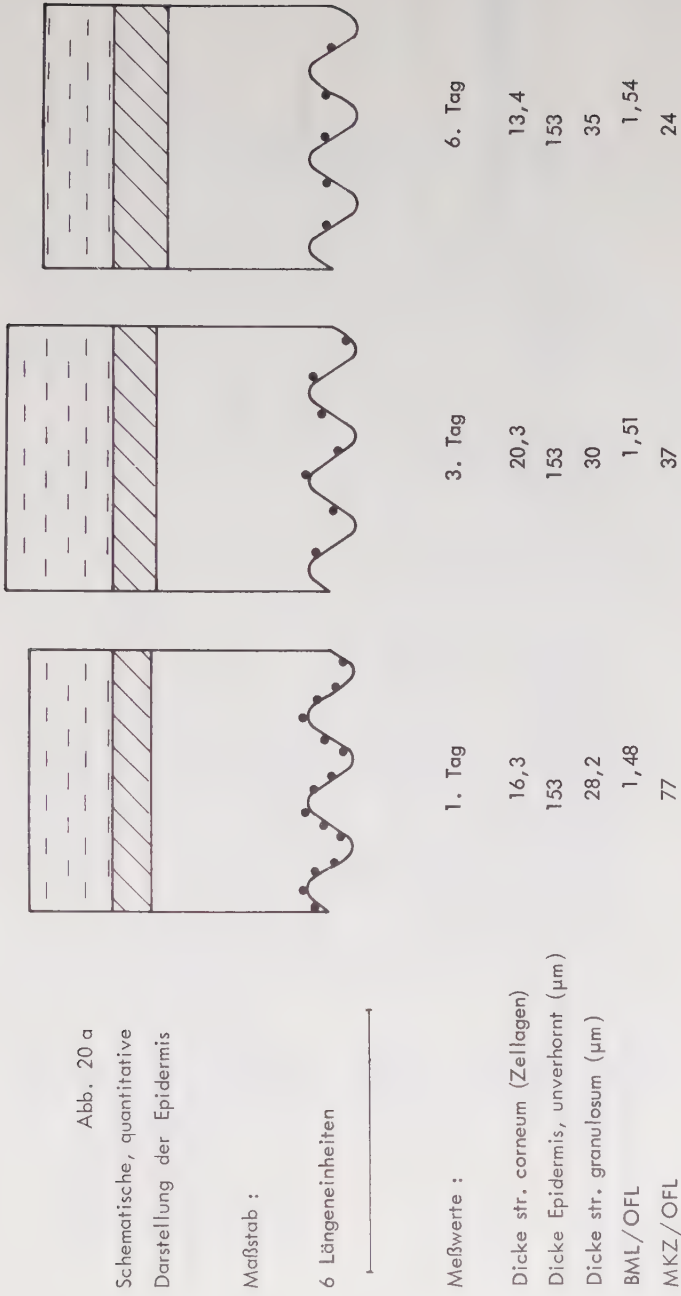
1. Phase (Tag 1 - 6) für die Parameterkombination
str. granulosum - MKZ/OFL $r = - 0,76$
2. Phase (Tag 6 - 15) für alle Parameterkombinationen,
die MKZ/OFL nicht enthalten
(r-Werte von 0,91 - 0,99)

i) Schematische Darstellung der Epidermis (Abb. 20 a, 20 b)

Folgende Parameter wurden quantitativ aufgetragen :

1. Dicke des str. corneum ;
Maßstab : 1 Längeneinheit $\hat{=}$ 8,4 Zelllagen
2. Dicke der lebenden Epidermis ;
Maßstab : 1 Längeneinheit $\hat{=}$ 31 μ m
3. Dicke des str. granulosum ;
Maßstab : 1 Längeneinheit $\hat{=}$ 31 μ m
4. Basalmembranlänge ;
In der Zeichnung wird eine Sinusschwingung verwendet.
Die Amplitude ist so gewählt, daß der jeweilige Längen-
überschuß gegenüber der Oberflächenlänge quantitativ
dargestellt wird. Beim Kontrollwert z. B. ist BML um 9 %
größer als OFL, also 6,54 Längeneinheiten statt 6 Län-
geneinheiten.
5. MKZ/OFL ;
Maßstab : 4 gezeichnete Zellen/6 Längeneinheiten OFL
entsprechen 20 MKZ/ 1 mm OFL im Präparat.

Abb. 20 a
Schematische, quantitative
Darstellung der Epidermis



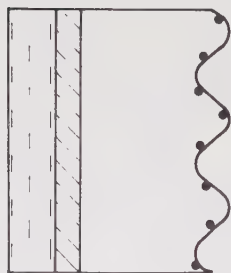
Meßwerte :

Abb. 20 b

Schematische, quantitative
Darstellung der Epidermis

Maßstab :

6 Längeneinheiten



Meßwerte :

11. Tag

Dicke str. corneum (Zellagen)

9,2

Dicke Epidermis, unverhornt (μm)

112

Dicke str. granulosum (μm)

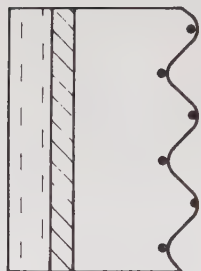
19,8

BML/OFL

1,33

MKZ/OLF

43



15. Tag

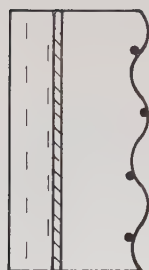
8,8

93

15,2

1,23

31



Kontrolle

8,4

61,9

7,3

1,09

20,3

IV. BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE

Die Zunahme des Epidermisvolumens nach Applikation bestimmter chemischer Substanzen (z.B. HDC, Crotonöl, Vitamin-A-Säure) ist ein typischer erwartungsgemäß eintretender Befund. Das epidermale Dickenwachstum kann dabei beim Meerschweinchen auf das 5 - 6-fache der Norm gesteigert werden (17, 26, 36).

Nach einer bestimmten Zeit fortgesetzter Behandlung mit HDC stellt sich ein steady state ein, d.h. 50 % der postmitotischen Zellen gehen nach Durchlaufen der Differenzierung verloren, so daß die Zellzahl konstant bleibt. Damit unterscheidet sich diese Form der Hyperplasie grundsätzlich vom Karzinom, bei dem die Mitoserate immer größer ist als die Rate des Zelltodes (8).

In unserem Versuch waren zu keinem Zeitpunkt im histologischen Bild auf zellulärer Ebene histopathologische Hinweise auf eine Malignisierung (Kernpolymorphie, Dyschromasie, abnorme Chromatinnmuster, Dyskeratose) festzustellen. Das färberische Verhalten von Zytoplasma und Zellkern wich nicht vom Normalbild ab. Die für den Gewebeverband typische Schichtung (str. basale, str. spinosum, str. granulosum, str. corneum) sowie die Trennung von proliferativer und differenzierender Zellpopulation war immer gewahrt.

Daraus kann geschlossen werden, daß die durch HDC erzeugte Hyperplasie wie in der Literatur angegeben (16, 23) benignen Charakter besitzt.

Die Mechanismen, die bei Absetzen der HDC-Behandlung zu einem Abbau der hyperplastischen Gewebeveränderungen führen, sind nicht genau bekannt.

Wie unsere Ergebnisse zeigen, vollzieht sich die Rückbildung der Hyperplasie anscheinend 2-phasig.

In die erste Phase, direkt im Anschluß an das Behandlungsende (etwa bis zum 6. Tag), fallen starke, scheinbar unkoordinierte Veränderungen der Parameter.

Der Ausgangspunkt für Phase 2 wird zwischen 7. und 9. Tag erreicht. Von da ab vollzieht sich ein ruhiger Abbau der noch bestehenden Rest-Hyperplasie.

A. Besprechung der ersten Phase (= 1. - 6. Tag) der Hyperplasierückbildung

1. Vergleich von MKZ/OFL und Dicke der unverhornten Epidermis

Während die Dicke der unverhornten Epidermis vom 1. - 6. Tag einen annähernd konstanten Wert aufweist (Abb. 9, 17), fällt die Kurve des MKZ/OFL im gleichen Zeitraum von hohen Werten (am 1. Tag: MKZ/OFL = 70) fast auf Kontrollwert-Niveau ab (Abb. 16, 17).

Daraus können folgende Schlüsse gezogen werden :

- a) Die unverhornte Epidermis befindet sich vom 1. - 6. Tag im Zustand des Fließgleichgewichtes. Es entspricht der Zellzufluß dem Zellabfluß.
- b) Die Zellneubildung gemessen als MKZ/OFL sinkt ab. Daraus kann geschlossen werden, daß auch die Geschwindigkeit, mit der die Zellen nach peripher wandern, sich proportional mit dem MKZ/OFL (und zwar unabhängig von der Schichtdicke) vermindert.
- c) Die Durchwanderungszeit (transit-time) der Einzelzelle von der Basalschicht bis zur oberen Grenze des str. granulosum wird somit umgekehrt proportional zum MKZ/OFL verlängert, da die Epidermisdicke unverändert hoch bleibt.

Allerdings gelten diese Schlüsse nur unter den beiden folgenden Voraussetzungen :

- Konstanz der Zellvolumen
- Konstanz der DNS-Synthesephasen-Dauer.

Gegen eine maßgebliche Beteiligung von Zellvolumenänderungen spricht, daß die unverhornte Epidermis 6 Tage lang konstante Dicke aufweist. Es erscheint unwahrscheinlich, daß eine verkürzte transit-time über eine so lange Zeit durch eine Hypertrophie aufgefangen werden kann.

Zudem liegt nicht die Entstehung einer Akanthose vor, bei deren Entwicklung es bekanntlich zu einer Zellhypertrophie kommt (5, 13, 22, 31). Bei dem hier dargestellten Versuch handelt es sich um den Abbau einer vorhandenen Akanthose.

Die S-Phasen-Dauer wird in der Literatur speziesabhängig als konstante Größe angegeben. Beim Meerschweinchen beträgt sie etwa 9 Stunden (11, 61). Möglicherweise bleibt bei einem beschleunigt ablaufenden Zellzyklus die S-Phase nicht völlig unbeeinflusst. Es wird eine Verkürzung um etwa 23 % angegeben (44).

Daher ist nicht ganz auszuschließen, daß bei einer Verlängerung der Generationszeit eine abnormal lange S-Phase auftritt. Dadurch könnte dann eine zu hohe Proliferationsaktivität durch den gemessenen MKZ/OFL vorgetäuscht werden.

Bemerkenswert ist, daß die unter Punkt c) festgestellte Verknüpfung von transit-time und MKZ im Gegensatz zu den Beobachtungen bei der Entwicklung einer Hyperplasie steht. Dort wird eine Proportionalität zwischen Dicke der lebenden Epidermis und dem MKZ/OFL angegeben (11, 50). Bullough (7) nimmt unter anderem für die Meerschweinchenepidermis wie auch für hyperplastische Epidermis allgemein die Proportionalität von Dicke und MKZ als generell gültig an. Die umgekehrte Proportionalität von transit-time und MKZ bei konstanter Dicke ordnet er einer hypoplastischen Epidermis zu.

Geht man davon aus, daß die Punkte a) bis c) in den wesentlichen Aussagen richtig sind, so kann man wegen der umgekehrten Proportionalität von MKZ/OFL und Durchwanderungszeit die folgenden drei Gleichungen aufstellen :

$$\frac{v_1}{v_2} = \frac{MKZ/OFL_1}{MKZ/OFL_2} \quad (1)$$

$$v_1 = \frac{d_1}{t_1} \quad (2)$$

$$v_2 = \frac{d_2}{t_2} \quad (3)$$

Dabei bedeutet : v = Wanderungsgeschwindigkeit der Zellen
 d = Schichtdicke der lebenden Epidermis
 t = transit-time

Durch Kombination von (1), (2), (3) erhält man :

$$\frac{t_2}{t_1} = \frac{MKZ/OFL_1}{MKZ/OFL_2} \times \frac{d_2}{d_1}$$

Verwendet man für Index 1 die Kontrollwerte, für Index 2 die Meßwerte von Tag 1 bis 6, so ergibt die Zeit, die eine Zelle für die Differenzierung bis zur Hornzelle benötigt, ein Vielfaches des Kontrollwertes (t_{ko}) (Tab. 2).

Zeit nach Absetzen der HDC-Behandlung	transit-time für unver- hornte Epidermis als Vielfaches des Kontroll- wertes t_{ko}	transit-time mit Verwendung von $t_{ko} = 14$ Tage
Tage		Tage
1	$0,64 \times t_{ko}$	9,0
2	$0,95 \times t_{ko}$	13,3
3	$1,33 \times t_{ko}$	18,6
4	$1,76 \times t_{ko}$	24,6
5	$2,06 \times t_{ko}$	28,8
6	$2,06 \times t_{ko}$	28,8
7	$1,75 \times t_{ko}$	24,5
9	$1,01 \times t_{ko}$	14,1
11	$0,85 \times t_{ko}$	12,0
13	$0,93 \times t_{ko}$	13,0
15	$0,98 \times t_{ko}$	13,8

Tabelle 2

Bei den in Tabelle 2 aufgeführten Durchwanderungszeiten handelt es sich um punktuell errechnete Werte, die das Verhalten der transit-time nach Absetzen der HDC-Behandlung beschreiben.

Auffallend ist dabei, daß der für den 1. Tag ermittelte Wert nicht mit dem in der Literatur angegebenen Wert von ca. 5 Tagen (18, 22, 44) übereinstimmt. Bis zum 5. Tag steigt die transit-time beständig an. Zwischen Tag 5 und 6 benötigt eine Zelle doppelt soviel Zeit, um die Differenzierung zur str. corneum-Zelle durchzuführen.

Es ist eine Umstellung von einer schnell ablaufenden Differenzierung zu einer langsam verlaufenden eingetreten.

Mitotische Aktivität und zeitlicher Ablauf der Differenzierung werden offensichtlich im Zeitraum 1. - 6. Tag im gleichen Sinne gesteuert. Möglicherweise ist ein gemeinsamer Steuermechanismus vorhanden, über den zur Zeit keine sicheren Vorstellungen bestehen (7, 9, 41).

Vom 6. Tag an tritt wieder eine Verkürzung der transit-time ein. Bei Versuchsende beträgt sie 13,8 Tage, was dem Normalwert von ca. 14 Tagen (18) sehr nahe kommt.

2. Verhalten des str. granulosum im Zeitraum 1. - 6. Tag

Grundsätzlich ist bei der Betrachtung dieser Zusammenhänge zu unterscheiden, in welcher Phase des Gewebewachstums die Epidermis sich befindet.

- Volumenzunahme (= Hyperplasieentwicklung),
- Hyperplasie mit Volumenkonstanz (steady state), wo Zellneubildung und Zellverlust sich ausgleichen,
- Volumenabnahme (Rückbildung der Hyperplasie).

Die letztgenannten Bedingungen, die in der vorliegenden Arbeit untersucht werden, sind kompliziert durch die sich darstellende Dissoziation von Zellneubildung und Zellreifung. Wie in Abb. 17 gezeigt, sinkt nach Absetzen der HDC-Behandlung der MKZ/OFL rasch auf Normalwerte ab, während das Gewebsvolumen über einen Zeitraum von 6 Tagen annähernd konstant bleibt. Mit der nachlassenden Zellneubildung ist somit eine Verlängerung der vorher stark verkürzten Reifungszeit eingetreten.

Interessant ist in diesem Zusammenhang das Verhalten des str. granulosum. Bis zum 3. Tag nach Behandlungsende wurden etwa gleichbleibend hohe Werte gemessen (Abb. 19), dagegen steigen die Werte vom 4. - 6. Tag deutlich an.

Eine Erklärung für diese Beobachtung bieten die korrelierenden Meßwerte für MKZ und Dicke des str. granulosum ($r = -0,76$). Offensichtlich treten – unter stark verlangsamer Reifungszeit – in der Zeit vom 4. – 6. Tag vermehrt nichtdifferenzierte Zellen in das str. granulosum ein und führen zu einem Anwachsen dieses Kompartments. Voraussetzung dafür ist ein relativ langsamer Zellabfluß in das str. corneum. Die Transit-Rate im str. granulosum wird unter den vorliegenden Bedingungen somit zu einem limitierenden Faktor für die Rückbildungsgeschwindigkeit der epidermalen Hyperplasie.

Dieser Befund wurde bisher nicht erhoben. Dagegen konnte ein wechselndes Verhalten der str. granulosum-Dicke interessanterweise auch bei manchen Hautkrankheiten beobachtet werden. Im Falle der Psoriasis vulgaris liegen Untersuchungen vor, welche einen direkt proportionalen Zusammenhang von Durchwanderungszeit und Dicke des str. granulosum nahelegen (16, 27). Dagegen fehlt bei Ichthyosis vulgaris (28) trotz einer normalen transit-time das str. granulosum gänzlich, oder es ist nur angedeutet sichtbar.

3. Verhalten des str. corneum im Zeitraum 1. – 6. Tag

Das str. corneum als die funktionelle Schicht der Epidermis steht als einzige in direktem Kontakt mit der Umwelt. Neben dieser Sonderstellung ist sie im Gegensatz zum unverhornten Teil aus toten Zellen aufgebaut. Es ist weitgehend unklar,

auf welche Art die Wahrung eines steady state im str. corneum erfolgt. Bekannt ist lediglich, daß der Zellverlust nicht auf einen mechanischen Abrieb angewiesen ist (37), sondern daß auch ohne jede äußere Einwirkung eine Abschilferung der Hornzelle erfolgt. Es wird im str. corneum ein Kohäsionsgradient angegeben, der in den str. granulosum-nahen Schichten groß ist und zur Epidermisoberfläche hin gegen Null geht (37); d.h. der Zusammenhalt der Hornzellen nimmt mit der Wanderung der Zellen nach peripher allmählich ab. Die dafür verantwortlichen Mechanismen sind bislang ungeklärt. Sicherlich wird durch physikalische und chemische Umwelteinwirkungen die Ablösung von Zellen schon eintreten, bevor die Kohäsion den Wert Null erreicht hat.

Im Hinblick auf das konstante Epidermisvolumen bei Abnahme der markierten Zellen ist entsprechend der verlangsamten Zelldifferenzierung eine kontinuierlich sinkende Hornzellbildung zu erwarten. Die in Abb. 18 dargestellten Meßwerte sind deshalb zunächst überraschend. Der hier verzeichnete Zuwachs an str. corneum-Zellen während der ersten 3 Tage ist jedoch wahrscheinlich auf eine verzögerte Abschuppung zurückzuführen, die in der fehlenden äußerlichen HDC-Einwirkung auf das str. corneum ihre Ursache hat.

Etwa am 4. Tag führt ein starker Zellverlust zu einem schnellen Abbau der Hyperkeratose. Bedeutsam erscheint hierbei die Tatsache, daß die epidermale Reifungszeit zu diesem Zeitpunkt bereits erheblich verlängert ist (s. Seite 55). Es ist deshalb denkbar, daß mit der verlängerten Reifungszeit Syntheseprodukte, etwa Enzyme entstehen, die die Lösung des interzellulären Zusammenhaltes der distalen Hornzellen bewirken. Eine Rolle könnten in diesem Zusammenhang die in den Odland-bodies enthaltenen Enzyme (Phosphatasen, lysosomale Enzyme) spielen, die im Zuge der Cornification in den Interzellularraum abgegeben werden (4, 38, 45, 46).

Voraussetzung an dieser Darstellung ist, daß mit dem Ausbleiben der HDC-Applikation fast sofort Hornzellen entstehen, die ein der Norm angenähertes Verhalten zeigen.

Da, wie im vorigen Abschnitt dargestellt, die Rate der Hornzellbildung abnimmt und somit mehr Zeit für diesen Differenzierungsschritt zur Verfügung steht, erscheint es durchaus möglich, daß die nach Behandlungsende gebildeten Hornzellen andere Eigenschaften aufweisen, als die bei der sehr raschen Cornification entstehenden Hornzellen.

4. Verhalten der dermoepidermalen Verbundzone

Wie aus Abb. 15 hervorgeht, nimmt während der ersten 6 Tage der Quotient von Basalmembranlänge : Oberflächenlänge leicht zu. Diese Messung ist methodisch bedingt mit relativ großen Standardabweichungen behaftet. Es wird jedoch ersichtlich, daß die bestehende Papillomatose während der Tage 1 - 6 relativ unverändert erhalten bleibt.

Es wurde an Hand experimenteller Untersuchungen verschiedentlich darauf hingewiesen, daß eine Abhängigkeit zwischen Epidermisdicke, Basalmembranlänge und Zahl der markierten Zellen pro Oberflächenlänge besteht. Untersuchungen der Epidermis aus verschiedenen Körperarealen (7, 19) sowie auch bei Psoriasis vulgaris (16, 53) deuten darauf hin, daß diese 3 Parameter in einer definierten Beziehung stehen. Bei einer experimentellen Stimulation der Epidermopoesis erfolgt die Anpassung der Parameter an die neuen Verhältnisse unterschiedlich schnell (50, 62). Auch bei der Rückbildung der Hyperplasie treten Verzerrungen auf. Zwischen 1. und 6. Tag liegt morphologisch das typische Bild einer akanthotischen Epidermis mit ausgeprägter Papillomatose vor. Doch entspricht der funktionelle Zustand nicht dem histologischen Bild : der MKZ/OFL erreicht etwa am 5. Tag fast Normalwerte, während die Anpassung von Epidermisdicke und BML/OFL an den abnehmenden MKZ/OFL zunächst ausbleibt.

Um die Länge der Basalmembran zu ändern, sind Umbauvorgänge im dermalen Bindegewebe nötig. Darin scheint die Ursache der verspäteten Reaktion der BML/OFL zu liegen. Das dermale Bindegewebe zeichnet sich nämlich durch eine sehr langsame Proliferation aus, was auch im histologischen Bild durch die geringe Zahl markierter Zellen zu beobachten ist. Ferner ist ein Auf- und Abbau von Kollagen nötig.

Falls, wie von van Scott et al. angegeben (53), eine Zunahme der Basalmembranlänge Ausdruck einer zahlenmäßigen Vergrößerung der Basalzellpopulation ist, werden Rückschlüsse auf die Generationszeit möglich. Im vorliegenden Fall sinkt der MKZ/OFL in Kontrollwertnähe, obgleich eine unverändert große Basalzellpopulation vorliegt.

Das kann durch eine Verlängerung des Zellzyklus erklärt werden, und es ist denkbar, daß ein Teil der Basalzellen in die Ruhephase (G_0 -Phase) tritt, während der andere Teil eine normale Zyklusdauer aufweist.

Immerhin darf man feststellen, daß bei der Hyperplasierückbildung BML/OFL und Basalzellpopulation nicht übereinstimmen. Es muß angenommen werden, daß basalliegende Zellen schon der differenzierenden Population angehören, oder wie oben erwähnt sehr langsam proliferieren.

B. Besprechung der zweiten Phase (= 6.-15.Tag)
der Hyperplasierückbildung

Die etwa vom 6. Tag an beginnende 2. Phase der Hyperplasierückbildung ist dadurch gekennzeichnet, daß der Verlauf aller Parameter mit Ausnahme des MKZ/OFL eine gleichmäßige Annäherung an den entsprechenden Ausgangswert aufweist.

1. Verhalten von unverhornter Epidermis, rete Malpighi,
str. granulosum und BML/OFL

Bemerkenswert ist, daß etwa vom 7. bis 9. Tag an für diese 4 Gewebegrößen ein einheitliches Verhalten vorliegt. Unverhornte Epidermis, rete Malpighi, str. granulosum zeigen einen Abfall in Richtung Kontrollwert, der sich durch eine e-Funktion beschreiben läßt. Vergleicht man die 4 im vorigen Kapitel erwähnten Funktionen, so stellt man fest, daß die Abklingkonstanten im Rahmen der Meßgenauigkeit als gleich zu interpretieren sind. Das bedeutet : die über das Kontrollniveau hinausgehende Vergrößerung nimmt für die gesamte Epidermis sowie auch für ihre einzelnen Schichten täglich um 11,15 % ab, wenn man den Mittelwert der Abklingkonstanten zugrunde legt.

Besonders interessant daran ist, daß die e-Funktion nicht für die Gesamtschichtdicke, sondern nur für die Verdickung selbst Gültigkeit hat. Das bedeutet, daß die Dickenabnahme proportional zur Zellzahl in der Verdickung ist. Der Überschuß scheint ohne Unterschreiten des Kontrollwertes abgebaut zu werden. Das läßt vermuten, daß der Kontrollwert eine durch besondere Merkmale ausgezeichnete Gewebegröße darstellt und das sowohl für die gesamte lebende Epidermis sowie auch für ihre einzelnen Zellkompartimente.

Im Verlauf der Hyperplasiertickbildung bleiben die Proportionen der über das Kontrollniveau hinausgehenden Vergrößerungen, wie sie etwa am 7. Tag bestehen, erhalten.

Berechnet man die Zeit, nach der nur noch eine 10 %ige Abweichung vom jeweiligen Kontrollwert vorliegt, so dauert das

bei der lebenden Epidermis	28,82 Tage,
beim rete Malpighi	27,52 Tage,
beim str. granulosum	35,65 Tage,
bei der BML/OFL	17,65 Tage.

Erwartungsgemäß wird also die 10 %ige Abweichung vom Normalwert früher von den Parametern erreicht, die nur einen relativ kleinen Überschuß (z.B. 50 % bei der BML/OFL) aufweisen.

Andere Ergebnisse erhält man, wenn anstelle der 10 %igen Abweichung eine feste Größe von 1 μ m Abweichung für die Zeitberechnung zugrunde gelegt wird. Das ist allerdings nur für 3 Meßgrößen möglich. Dabei erhält man für

die lebende Epidermis	44,25 Tage,
das rete Malpighi	41,93 Tage,
das str. granulosum	32,92 Tage.

Daraus geht hervor, daß die lang anhaltende Akanthose wesentlich durch die langsame Rückbildung im rete Malpighi verursacht wird.

2. Verhalten des str. corneum

Wie auch schon in Phase I weicht das Verhalten des str. corneum von dem der übrigen Parameter ab. Die Rückbildung der Hyperkeratose läßt sich nicht durch eine e-Funktion wiedergeben. Wie aus Abb. 13 ersichtlich, fällt die Kurve schneller ab, als durch die errechnete e-Funktion, die eine Abnahme des Dickenüberschusses um 20 % pro Tag zeigt, angegeben wird. Diese Tatsache unterstreicht das schon erwähnte Eigenverhalten des str. corneum, doch ist eine genauere Aussage an Hand der vorliegenden Messungen zur Zeit nicht möglich.

3. Verlauf des MKZ/OFL im Vergleich zu den anderen Parametern

Vom 7. bis 10. Tag steigen die MKZ/OFL-Werte an, um dann erneut abzusinken (Abb. 17). Erstaunlicherweise werden dadurch keinerlei Störungen im stetigen Abfall der übrigen Parameter ausgelöst.

Durch eine Schwankung der S-Phasendauer könnte eine zu hohe proliferative Aktivität vorgetäuscht werden. Dann wäre das Verhalten der übrigen Meßgrößen erklärt. Doch ist unwahrscheinlich, daß die S-Phasendauer vom 7. - 10. Tag ansteigt und dann wieder zum Ausgangspunkt zurückkehrt.

Interessant erscheinen in diesem Zusammenhang die Ausführungen von Schellander (52) über den Idealverlauf des Markierungsindex nach Stripping. Ausgehend von einem hohen Synchronisierungsgrad im Basalzellager nach Hornschichtabriß wird ein wellenförmiger Verlauf des Markierungsindex gefordert. Amplitude und Frequenz fallen dabei mit der Zeit ab. Danach bleibt es dem Zufall überlassen, ob die Markierung zur S-Phase erfolgt oder zu einer Zeit, in der die meisten Zellen sich in einer anderen Phase des Zyklus befinden.

Nach diesem Modell können die gemessenen MKZ/OFL-Werte durchaus mit einer kontinuierlich sinkenden proliferativen Aktivität in Einklang stehen.

Eine möglicherweise näherliegende Interpretation dieser Befunde besteht darin, den Anstieg der MKZ zwischen dem 7. und 11. Tag zu den übrigen Rückbildungsgrößen insbesondere von Epidermis und Basalmembran in Beziehung zu setzen. Vor allem die zeitliche Korrespondenz - Anstieg der MKZ/OFL zum Zeitpunkt der Rückbildung - legt einen möglichen Zusammenhang nahe. Die grundsätzlich wichtige Frage, woher erhält die epidermale Basalzellpopulation am 7. Tag einen Stimulus zu erneuter Proliferation, läßt sich nicht klar beantworten.

Die Möglichkeiten beschränken sich auf zwei prinzipiell verschiedene Auslösemechanismen :

- epidermal (durch den am 6. - 7. Tag einsetzenden Zellabfluß, der Zellen "mitziehen" könnte und die Epidermopoese steigert) oder
- dermal (indem membranaktive Substanzen, Enzyme die durch den dermalen Rückbildungsprozess frei werden, die epidermalen Basalzellen zu erneuter Proliferation stimulieren).

Die sich hier darstellende Problematik erscheint von grundlegendem Interesse, besonders im Hinblick auf die Frage der Steuerung der epidermalen Gewebshomeostase. Eine sichere Aussage zu treffen würde jedoch den Rahmen dieser Arbeit sprengen.

V. ZUSAMMENFASSUNG

Ein charakteristisches Merkmal der Säugetierepidermis ist die reaktive Zunahme des Gewebsvolumen nach exogener Stimulation. Die sich hier abspielenden Vorgänge sind vielfach, zum Teil auch quantitativ untersucht worden. Während jedoch die Initialphasen der sich entwickelnden Hyperplasie besonderes Interesse fanden, sollte in der vorliegenden Arbeit besonderes Augenmerk auf die Vorgänge gerichtet sein, die sich nach Absetzen des Hyperplasio- gens bei der Rückbildung der epidermalen Hyperplasie zeigen. Histometrische Analysen aller Gewebsgrößen einschließlich des str. corneum, wie auch die quantitative Bestimmung der proliferativen Aktivität in H^3 -Thymidin-Autoradiographie wurden in Abhängigkeit von der Zeit bis zur Normalisierung der induzierten Veränderungen durchgeführt.

Charakteristischerweise zeigten sich dabei zwei Phasen :

- Phase 1 umfaßte die Zeit von Tag 1 - 6,
- die Zeit von Tag 6 - 15 wurde als Phase 2 bezeichnet.

Während der Phase 1 sind folgende Einzelmomente an der Hyperplasierückbildung beteiligt :

1. Die Zahl der teilungsaktiven Zellen sinkt bis zum 7. Tage steil ab. Proportional mit dem MKZ/OFL sinken die in Differenzierung tretenden Zellen.
2. Die Durchwanderungszeit in der unverhornten Epidermis steigt an.
3. MKZ/OFL und transit-time sind umgekehrt proportional, da bei unverändert dicker Epidermis (während der Phase 1) die Wanderungsgeschwindigkeit der Zellen proportional mit dem MKZ/OFL sinkt.
4. Das str. granulosum stellt einen geschwindigkeits-limitierenden Faktor im Differenzierungsablauf dar.
5. Das str. corneum zeigt abweichend von den übrigen Kurven in der Mitte der 1. Phase eine rasche Verminderung der Zellzahl, die wahrscheinlich in der qualitativen Änderung der Ausreifung ihre Ursache hat.

Während der Phase 2 wird bei 4 Parametern (Dicke der lebenden Epidermis, str. granulosum, rete Malpighi, BML/OFL) der Überschuß über dem Kontrollwert nach einer e-Funktion abgebaut.

Dabei ist interessant, daß die Abklingkonstanten der 4 Funktionen praktisch übereinstimmen. Es konnte errechnet werden, daß der Überschuß über dem Kontrollwert jeweils nach etwa 6 Tagen um 50 % reduziert wird.

Während des am 6. Tag einsetzenden erhöhten epidermalen Zellabflusses tritt eine vorübergehende Erhöhung der Epidermopoese auf. Die Ursache dafür ist nicht klar, dermale wie epidermale Faktoren werden diskutiert.

Die vorliegenden Ergebnisse zeigen, daß bei der gewählten Versuchsanordnung eine Dissoziation der grundlegenden gewebshomeostatischen Regelmechanismen der Epidermis erzielt werden kann. Die proliferative Aktivität konnte von der Differenzierungsgeschwindigkeit als ein vorübergehend eigenständiger Prozeß getrennt werden. Beide Zelleistungen sind unterschiedlich geschwindigkeitsabhängig, wobei die Rate der epidermalen Differenzierung ein wesentlich langsamer sich regulierender Vorgang ist.

VI. LITERATURVERZEICHNIS

1. ABRAMOWITZ, M., STEGUN, I.A. : Handbook of
Mathematical Functions.
Dover Publications, Inc. New York (1970)
2. BACH, H., GOERTTLER, K. : Morphologische Untersuchungen zur hyperplasiogenen Wirkung des biologisch aktiven Phorbol ester A_1 .
Virchows Arch. Abt. B Zellpath. 8, 196-205 (1971)
3. BORNE, W. : Die epidermale DNS-Synthese während des Aufbaues einer experimentellen Akanthose beim Meerschweinchen.
Arch. Klin. exp. Derm., 236, 53 - 60
4. BRAUN-FALCO, O. : Die Histochemie der Haut in
Gottron, H.A. und Schönfeld, W. Dermatologie und Venerologie Bd. 1 : 366 - 472
Stuttgart G. Thieme (1961)
5. BRAUN-FALCO, O. : Zum Problem der Psoriasis vulgaris.
Jap. J. Derm., 78, 558 - 588 (1968)
6. BRAUN-FALCO, O., LANGNER, A., CHRISTOPHERS, E. :
Über den Einbau von ^{35}S -markiertem Sulfat in die Haut bei Psoriasis.
Arch. Klin. exp. Derm., 224, 310 - 317 (1966)

7. BULLOUGH, W.S. : The control of epidermal thickness.
Br. J. Derm., 87, 137 - 199 (1972)
8. BULLOUGH, W.S. : The control of eupdermal thickness.
Br. J. Derm., 87, 347 - 354
9. BULLOUGH, W.S. : The epidermal Chalone Mechanism.
First Symposium of the Intermedial Chalone Conference
Brook Lodge Augusta, Mich. June 5 - 7 (1972)
10. CAMERON, I.L. : Is the duration of DNA-Synthesis
in somatic cells of mammals and birds a constant ?
J. Cell Biol. 20, 185 - 194 (1964)
11. CHRISTOPHERS, E. : Die Regeneration der normalen und
hyperplastischen Epidermis.
Habilitationsschrift aus der Dermatologischen Klinik
und Poliklinik der Universität München (1969)
12. CHRISTOPHERS, E. : Epidermale Regeneration ; Zellkine-
tische Aspekte.
Archiv für Dermatol. Forschung
Bd. 244, S. 21 - 26 (1972) 29. Kongreßbericht
13. CHRISTOPHERS, E. : DNS-Synthese und Hyperplasie der
Epidermis nach Hornschichtabriß und Salbenapplikation.
Arch. Klin. exp. Derm., 233, 277 - 286 (1968)
14. CHRISTOPHERS, E. : Die epidermale Columnärstruktur.
Ztschrf. Zellforsch., 114, 441 - 450 (1971)

15. CHRISTOPHERS, E. : Eine neue Methode zur Darstellung des str. corneum.
Arch. Klin. exp. Derm., 237, 717 - 721 (1970)
16. CHRISTOPHERS, E. : Pathogenetische Aspekte der Psoriasis.
Med. Klin. 67 (1972) Nr. 10
17. CHRISTOPHERS, E. : Wachstumsdynamik von Epidermis und Papillarkörper nach lokaler Applikation von Vitamin A-Säure. Biometrische Untersuchungen am Meerschweinchenohr.
Arch. Klin. exp. Derm., 233, 99 - 106 (1968)
18. CHRISTOPHERS, E. : Die Wanderungskinetik postmitotischer Epidermiszellen.
Arch. Klin. exp. Derm., 236, 161 - 172 (1970)
19. CHRISTOPHERS, E. : Regional variations in Mouse Skin : Quantitation of Epidermal Compartments in Two Different Body sites.
Virchows Arch., Abt. B Zellpath. 12, 212 - 222 (1973)
20. CHRISTOPHERS, E., BRAUN-FALCO, O. : Fluorescein-Isothiocyanate as a Stain for Keratinizing Epithelia.
Arch. Derm. Forsch., 241, 199 - 209 (1974)

21. CHRISTOPHERS, E., BRAUN-FALCO, O. : Psoriatic
Hyperplasia : Some Measurements.
Br. J. Derm. 1970, 83,
22. CHRISTOPHERS, E., BRAUN-FALCO, O. : Epidermale
Regeneration am Meerschweinchenohr nach Hornschicht-
abriß.
Arch. Klin. exp. Derm., 231, 85 - 96 (1967)
23. CHRISTOPHERS, E., KLIGMAN, A.M. : Visualization
of the cell layers of stratum corneum.
J. invest. Derm. 42, 407 - 410 (1964)
24. CHRISTOPHERS, E., WOLFF, H.H., BRAUN-FALCO, O. :
Zelldifferenzierung im str. granulosum.
Elektronenmikroskopisch-autoradiographische Einbaustu-
dien mit ^3H -TdR.
Arch. Derm. Forsch., 242, 179 - 190 (1972)
25. EPSTEIN, E.L., SULLIVAN, D.I. : Epidermal mitotic
activity in wounded human skin.
In : Wound Healing, W. Montagna (Hsgb.) 68 - 74
Pergamon Press New York (1964)
26. FREI, J.V., STEPHENS, P. : The correlation of promotion
of tumor growth and of inductions of hyperplasia in
epidermal two-stage carcinogenesis.
Br. J. of Cancer 22, 83 - 92 (1968)

27. FROST, P., van SCOTT, E.J. : Ichthyosiform Dermatoses.
Arch. Derm., 94, 113 - 126 (1966)
28. FROST, P., WEINSTEIN, G.D., van SCOTT, E.J. : The
ichthyosiform dermatoses.
II. Autoradiograph. stud. of epidermal proliferation.
J. invest. Derm., 47, 561 - 567 (1966)
29. GROSS, J. : Kinetics of Compensatory Growth.
Quart. Rev. Biol. 40, 126 - 146 (1965)
30. GREULICH, C. : Aspects of Cell Individuality in the
Renewal of Stratified Squamous Epithelia.
In : The Epidermis, 117 - 132
W. Montagna and W.C. Lobitz, (Hsgb.)
Academic Press, New York - London (1964)
31. HEITE, H.J., ULRICH, C. : Epidermisdicke, Zellzahl und
Mitoserate in der Meerschweinchenhaut unter dem
Einfluß verschiedener Röntgenstrahlen.
Arch. Klin. exp. Derm., 210, 625 - 640 (1960)
32. HELL, E.A., CRUICKSHANK, C.N.N. : The effect of
injury upon the uptake of ³H-Thymidine by Guinea pig
epidermis.
Exp. Cell Res. 31, 128 - 139 (1963)

33. HENNINGS, H., ELGJO, K. : Epidermal Regeneration after cellophane tape Stripping of Hairless Mouse Skin.
Cell Tissue Kinet. 3, 243 - 252 (1970)
34. HOEKSTRA, W.G., PHILLIPS, P.M. : Effects of Typically Applied Mineral Oil Fraction on the Skin of Guinea Pig.
J. invest. Derm. 40, 79 (1968)
35. HORN, W., HIMMELMANN, G.W., RUPEC, M. : Die Mitosehäufigkeit in der normalen Epidermis der Maus nach einmaliger DMSO-Einwirkung.
Arch. Klin. exp. Derm. 234, 287
36. KIRK, D.L., HOEKSTRA, W. : Hexadecane induced Hyperkeratinization of Guinea pig skin.
I. Changes in epidermal weight and waterbinding.
J. invest. Derm. 43, 93 - 98 (1964)
37. KLIGMAN, A.M. : The Biology of the Stratum Corneum.
In : The Epidermis, 387 - 433
W. Montagna und W.C. Lobitz (Hsgb.)
Academic Press, London - New York (1964)
38. LAVKER, R.M., MATOLTSY, A.G. : Formation of Horny cells. The fate of cell Organelles and Differentiation products in Ruminal Epithelium.
J. Cell Biol. 44, 501 - 512 (1970)

39. MACKENZIE, I.C., MILES, A.E.W. : The effect of chronic frictional stimulation of Hamster cheek pouch epithelium.
Arch. oral. Biol. Vol. 18 pp. 1141 - 1349 (1973)
40. MACKENZIE, Jan. C. :
The Effects of frictional Stimulation on Mouse Ear Epidermis.
1. Cell Proliferation
J. invest. Derm., 62, 80 - 85 (1974)
41. MARKS, R. : The role of chalones in epidermal Homeostasis.
Br. J. Derm. 86, 543 (1972)
42. MARQUES PEREIRA, J.P., LEBLOND, C.P. : Mitosis and Differentiation in the stratified Squamous Epithelium of the Rat Esophagus.
Am. J. Anat. 117, 73 - 89 (1965)
43. MESSIER, B., LEBLOND, C.P. : Cell proliferation and Migration as revealed by radioautography after injection of Thymidine-³H into small rats and mice.
Amer. J. Anat. 106, 247 - 285 (1960)
44. MÜLLER, G. : Die benigne Hyperplasie der Meerschweinchenepidermis nach lokaler Hexadecan-Applikation. Autoradiographisch-Zytokinetische Untersuchungen. Inaugural-Dissertation an der Dermatologischen Klinik und Poliklinik der Universität München (1971)

45. ODLAND, G.F. : A submicroscopic granular component
in human epidermis.
J. invest. Derm. 34, 11 - 15 (1960)
46. ODLAND, G.F. : The fine structure of the interrelation-
ship of cells in the human epidermis.
J. Biophysic and Biochem. Cytol. 4, 529 - 538 (1958)
47. OEHLERT, W. : Regeneration, Hyperplasie und Cancerisie-
rung am Beispiel der epithelialen Wechselgewebe.
In : Handbuch der Allg. Patho, 6/2 Ed. H.W. Altmann
Berlin, Springer p. 244 (1969)
48. PELC, S.R. : Autoradiograph. technique
Nature 160, 749 - 750 (1947)
49. PINKUS, H. : Examination of the epidermis by the strip method.
II. Biometric data on regeneration of the human epidermis.
J. invest. Derm., 19, 431 - 446 (1952)
50. POHL, P. : Quantitative Analyse der Epidermisstruktur.
Abhängigkeit von Körperregion und Zellneubildungsrate.
Inaugural-Dissertation Med.Fakultät Universität München
(1972)
51. SHERMAN, F.G., QUASTLER, H., WIMBER, D.R. : Cell
Population Kinetics in the Ear Epidermis of Mice.
Exp. Cell Res. 25, 114 - 123 (1961)

52. SCHELLANDER, F. : Reaktion von Epidermis und subepidermalem Bindegewebe auf Hornschichtabrisse.
Arch. Klin. exp. Derm. 234, 158 - 167 (1969)
53. SCOTT van, E.J., EKEL, T.M. : Kinetics of hyperplasia in psoriasis.
Arch. Derm., 88, 373 - 381 (1963)
54. STEIGLEDER, G.K. : Beitrag zur Funktion der Acanthose.
Arch. Klin. exp. Derm. 200, 377 (1955)
55. SULLIVAN, D.I., EPSTEIN, W.L. : Mitotic activity of wounded human epidermis.
J. invest. Derm. 41, 39 (1963)
56. TAYLOR, J.H., WOODS, P.S., HUGES, W.L. : The organization and duplication of chromosomes as revealed by autoradiographic studies using tritium labelled thymidine.
Proc. Nat. Acad. Sci. 43, 122 - 128 (1957)
57. WEINSTEIN, G.D., FROST, P. : Cell proliferation Kinetics in Benign and Malignant Skin Disease in Humans.
National cancer Institute Monograph. Nr. 30
58. WEINSTEIN, G.D., FROST, P. : Abnormal cell proliferation in psoriasis.
J. invest. Derm., 50, 254 - 259 (1968)

59. WEINSTEIN, G.D., SCOTT van, E.J. : Autoradiographic analysis of turn-over times of normal and psoriatic epidermis.
J. invest. Derm. 45, 257 - 262 (1965)
60. WEIRICH, E.G. : Über die Quantifizierung epidermo-
plastischer Reaktionen mit Hilfe der seriellen
Projektions-Histoplanimetrie.
Arch. Klin. exp. Derm. 239, 79 - 95 (1970)
61. YAMAGUCHI, Takeo, TABACKNICK, J. : Cell Kinetics
of Epidermal Repopulation and Persistent Hyperplasia
in locally BETA-Irradiated Guinea Pig Skin.
Radiation Research 50, 158 - 180 (1972)
62. ZIE, J.S. : Vitamin A Acid Effects on Epidermal
Mitotic Activity, Thickness and Cellularity in the
Hairless Mouse.
J. invest. Derm. 59, No. 3 (1972)

Herrn Professor Dr. med. E. Christophers danke ich für die Überlassung des Themas und dafür, daß er jederzeit für klärende Diskussionen zur Verfügung stand und den Fortgang der Arbeit förderte.

Herrn Professor Dr. med. O. Braun-Falco danke ich dafür, daß er mir die Möglichkeit gab, diese Arbeit an seiner Klinik durchzuführen.

Fräulein B. Klahre danke ich für die wirkungsvolle Unterstützung bei der Durchführung der technischen Arbeiten.

LEBENS LAUF

Am 18.12.1944 wurde ich als Sohn des Physikers Horst Burkhardt und seiner Ehefrau Hertha, geb. Bergmann, in München geboren.

Die Volksschule besuchte ich von 1951 - 1956 anfangs in München, später in Altenmarkt an der Alz. 1956 trat ich dann in das humanistische Gymnasium des Landerziehungsheimes Stein ein und legte 1965 am Maximilians-Gymnasium in München das Abitur ab.

Nach dem Grundwehrdienst immatrikulierte ich mich 1967 an der Universität München für das Fach Physik.

Im Herbst 1969 wechselte ich die Studienrichtung und nahm das Studium der Zahnmedizin auf.

Im Winter 1974 legte ich das Staatsexamen ab und erhielt am 26. Februar 1975 die Bestallung als Zahnarzt.

